

国内未承認薬の輸入・管理・供給

分担研究者 加藤 康幸 国立国際医療研究センター 国際感染症対策室医長

研究要旨：熱帯病・寄生虫症の症例に対して、未承認薬（国外では標準薬として使用されている薬剤）の有効性と安全性を評価する臨床研究を開始した。2013 年 4 月から 2014 年 3 月までに 48 症例が登録された。疾患別ではマラリアが最も多く（20 症例）、次いでトキソプラズマ症（6 症例）、赤痢アメーバ症（5 症例）であった。薬剤別では、メトロニダゾール注射薬とプリマキン錠が最も多く（各 10 症例）、次いでアーテメター・ルメファントリン合剤（8 症例）であった。治療成績報告書が回収された 36 症例における薬剤の有効性は、著効または有効 35 例、不明 1 例であった。3 例に重篤有害事象を認めたとしたが、薬剤との明らかな因果関係を認めなかった。赤痢アメーバ症やトキソプラズマ症は薬剤使用機関への転院が困難な症例も国内で発生していることから、このような状況における倫理審査などが課題と考えられた。未承認薬の安定確保に努めるとともに、薬剤使用方法に関する資料を作成し、ホームページなどで公開した。

A. 研究目的

熱帯病・寄生虫症に対する治療薬のうち、国外では標準薬となっているが、国内未承認であるものについて、多施設臨床試験を実施し、治療効果と安全性を評価した。本分担研究では、データセンターとして、症例登録や治療報告の管理を行うほか、中央薬剤保管機関として、未承認薬の輸入から保管・供給までを担当した。

B. 研究方法

対象となる薬剤（表 1）は、研究分担者が輸入し、臨床試験用として関東厚生局から薬監証明を取得した。輸入した未承認薬は、国立国際医療研究センター病院薬剤部の協力を得て、同部薬品庫に適切に保管した。緊急性が高い、あるいは使用頻度が高いと考えられるキニーネ注射薬、アーテメター・ルメファントリン配合錠、メトロニダゾール注射薬、プリマキン錠については、常備薬として薬剤使用機関（表 2：全国 31 施設）に事前配布した。ほかの薬剤については、対象症例が発生した際に薬剤使用機関に送付することとした。

薬剤使用機関の分担診療責任者は、患者に説明し、文書による同意を得て、薬剤使用登録書を国

立国際医療研究センター国際感染症対策室（データセンター）に送付することとした。重篤有害事象が発生した場合には、直ちにデータセンターに届け出ることとした。治療後 4 週間経過観察後に提出される治療報告書により、薬剤の有効性と安全性を評価した。なお、薬剤使用機関への転院が困難と考えられる症例が発生した場合には、該当医療機関の主治医からデータセンターに提出された薬剤特殊使用申請書をもとに研究代表者または研究分担者で適応を吟味し、緊急性が高い場合などには薬剤を使用できることとした。

（倫理面への配慮）

臨床研究における倫理指針に従い、原則として、事前に院内倫理委員会において審査・承認を受けた薬剤使用機関において、対象薬剤を使用できることとした。薬剤使用にあたっては、十分な説明の上で同意を得ることとし、説明・同意文書を整備した。データセンターに送付される使用登録書、治療報告書は、患者を特定する個人情報が含まないようにし、施錠されたキャビネット内で保管した。臨床研究保険に加入し、研究上生じた健康被害に対応できるようにした。

C. 研究結果

1) 症例登録状況

2014年3月31日時点での登録症例を表3にまとめた。

薬剤	疾患名	症例数
メトロニダゾール	赤痢アメーバ症	5
	偽膜性腸炎	5
プリマキン	ニューモシスチス肺炎	4
	三日熱マラリア	3
	卵形マラリア	3
アーテメター・ルメファントリン合剤	熱帯熱マラリア	7
	四日熱マラリア	1
ピリメタミン*	トキソプラズマ症	5
	急性脳炎	2
スルファジアジン*	トキソプラズマ症	5
	急性脳炎	2
キニーネ(注射)	熱帯熱マラリア	5
	急性脳症	1
トリクラベンダゾール	肝蛭症	2
スチボグルコン酸ナトリウム	皮膚リーシュマニア症	2
化チオン酸プロパミジン	アcantアメーバ角膜炎	2
アーテスネート(坐薬)	熱帯熱マラリア	2 [#]
クロロキン	卵形マラリア	1
合計		48

* 全例で両剤併用, # 1例がキニーネ注射薬と併用

疾患でもっとも多いのはマラリアで、熱帯熱マラリアが13例(アーテメター・ルメファントリン合剤7例、キニーネ静注4例、アーテスネート坐薬1名、アーテスネート坐薬とキニーネ静注の併用1例)、三日熱マラリア3例(すべてプリマキン)、四日熱マラリア1例(アーテメター・ルメファントリン合剤)、卵形マラリア3例(クロロキンとプリマキン1例、プリマキンのみ2例)であった。

皮膚リーシュマニア症は、いずれも外国人(シリア、スリランカ)の症例で出身国での感染と考えられた。スチボグルコン酸ナトリウムの局注により治療し、良好な経過を得た。また、肝蛭症のうち1例はインドネシアでの感染と考えられた。

2014年3月31日現在で治療報告書が提出された40例のうち、治療後に病名変更となった4例を除いた36例における薬剤の有効性は、有効または著効35例、不明1例であった。

2) 重篤有害事象

薬剤使用機関から4件の重篤有害事象報告が提出され、うち3件について重篤有害事象と認定し、研究代表者およびデータセンターの所属機関における報告と研究班内での情報共有など必要な手続きを取った。

内訳は、死亡(2件:ピリメタミン+スルファジアジン;メトロニダゾール)、呼吸不全(1件:キニーネ)でいずれも薬剤との明らかな因果関係はないと判断された。ピリメタミン+スルファジアジンを使用した症例は、当初の脳生検ではトキソプラズマ症と診断されたが、病理解剖でネグレリアによるアメーバ性髄膜脳炎と診断された。メトロニダゾールが使用された偽膜性腸炎の症例は薬剤使用時にショックを合併していた。また、キニーネが使用され、人工呼吸を要する呼吸不全が発現した熱帯熱マラリア症例は腎不全を合併していた。

3) 薬剤情報の提供

研究班が保管する薬剤の使用法などに関する情報を提供するため、専用ホームページを開設した。また、キニーネ注射薬の使用法などを解説したマラリア診断・治療アルゴリズムを作成し、ホームページ等で公開した(図1)。

D. 考察

疾患別ではマラリアが最も多く、20例に研究班保管薬剤が使用された。とくに脳症や急性腎不全を来した重症マラリアでは、注射薬の使用が望ましいため、本研究班が保管するキニーネ注射薬は我が国におけるマラリア治療において欠かせない薬剤となっている。一方で経口薬のアーテメター・ルメファントリン合剤は、2013年2月に承認販売されたマラロン配合錠や販売後10年を経過して実績のあるメフロキン錠との差異化が難しく、登録症例の選定について分担診療責任者の中でも議論がある。アーテメター・ルメファントリン合剤の原虫消失時間が速い特性を考慮し、重症マラリアの中でも原虫寄生率が比較的低い(2～

5%)症例について、キニーネ注射薬の代替として使用することが考えられた。アーテスネート坐薬については入手が難しい状況となっており、2014年3月31日現在で研究班に在庫はない。販売元のAcino Pharma AGの担当者と交渉中である。

血液疾患など免疫不全を背景にした中枢神経病変のあるトキソプラズマ疑い症例について薬剤使用機関ではない病院から問い合わせを受けた。病原体または血清診断により確定した症例のみを研究班保管薬剤の対象としているが、それ以外の症例ではトリメトプリム・スルファメトキサゾールが経験的に使用されることも多いと考えられた。診断に関するガイドラインの公表が強く望まれる。ピリメタミンとスルファジアジンは開発企業が決定したため、承認作業が今後進むことが期待される。本研究班によるデータが活用されるよう治療成績の確実な収集が求められている。

偽膜性腸炎(5例)とニューモシスチス肺炎(4例)は熱帯病・寄生虫症でないため対象疾患から外されているが、承認薬が使用できない場合には例外的に研究班の保管する薬剤の使用を認めることとしている。それぞれメトロニダゾール、プリマキンが分担診療責任医師の判断のもと使用された。ニューモシスチス肺炎については、すべて後天性免疫不全症候群の合併症であった。同疾患でのプリマキンの評価について、エイズ治療薬研究班との役割分担が今後の課題と考えられる。

赤痢アメーバ症とトキソプラズマ症は輸入症例が少なく、国内のさまざまな医療機関で診断される。合併症などで薬剤使用機関への転院が困難なこともあり、薬剤使用機関外に研究班保管薬を送付する事例が7件発生した。内訳は、赤痢アメーバ症(3例)、アカントアメーバ角膜炎(2例)、トキソプラズマ症(2例)であった。赤痢アメーバ症の3例については、データセンターの医師がメトロニダゾールを持参し、薬剤使用方法、症例登録手順を主治医に説明するなどして薬剤の適正使用を図った。トキソプラズマ症の1例については、薬剤使用が長期になることから、院内倫理委員会で審査を受けるよう指導し、承認を受けた。

現行の研究計画書にある研究代表者と分担者で薬剤使用の可否を判断するのは倫理面で問題が生じる可能性があるため、薬剤使用機関外で薬

剤を使用する場合は、自施設で速やかに倫理審査を受けることを原則とすることが望ましいと考えられた。

E. 結論

熱帯病・寄生虫症の症例に対して、未承認薬の有効性と安全性を評価する研究を開始した。48症例が登録された。うち36例の有効性について、著効または有効35例、不明1例であった。3例に重篤有害事象を認めたが、薬剤との明らかな因果関係を認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 加藤康幸. 脳マラリア. 日本臨床 26:888-891, 2013
- 2) 加藤康幸. マラリアの臨床. バムサジャーナル 26:36-39, 2014

2. 学会発表

- 1) 古川恵太郎, 早川佳代子, 谷崎隆太郎, 忽那賢志, 氏家無限, 竹下望, 狩野繁之, 金川修造, 加藤康幸, 大曲貴夫. アーテメター/ルメファントリン合剤投与後に熱帯熱マラリアの再燃を認めた1例. 第87回日本感染症学会学術講演会, 横浜, (2013.6)
- 2) 藤川祐子, 増淵雄, 加藤康幸, 鹿児島崇, 山崎善隆. 骨髄に血球貪食像を認めた三日熱マラリアの一例. 第87回日本感染症学会学術講演会, 横浜, (2013.6)
- 3) 藤谷好弘, 早川佳代子, 加藤康幸, 竹下望, 忽那賢志, 馬渡桃子, 小林鉄郎, 金川修造, 狩野繁之, 大曲貴夫. マラリア予防内服終了後に発症した卵形マラリアの2例. 第17回日本渡航医学会学術集会, 新宿, (2013.7)
- 4) 加藤康幸. マラリアの予防内服と臨床. 第24回トラベラーズワクチンフォーラム研修会, 新宿, (2013.9)
- 5) 三木田馨, 前田卓哉, 阪本直也, 柳澤如樹, 菅沼明彦, 今村顕史, 川名明彦, 加藤康幸, 丸山治彦, 大西健児, 味澤篤, 木村幹男. 本邦におけるトキソプラズマ症治療薬の安全性, 効果に対する解析. 第83回日本寄生虫学会大会, 松山,

(2014. 3)

- 6) Kutsuna S, Hayakawa K, Kato Y, Fujiya Y, Mawatari M, Takeshita N, Kanagawa S, Ohmagari N: A comparison of clinical characteristics and laboratory findings of common fevers acquired by returning travelers: An 8-year report from a large travel clinic in Japan. 2013 ID Week, San Francisco, USA (2013.10)

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

国内未承認薬の有効性と安全性の検討および適切な情報提供

研究分担者 木村 幹男 結核予防会新山手病院診療技術部長

研究要旨 国内未承認薬であるアーテスネート坐薬を使用したマラリア患者 23 例につき、治療報告書を元に有効性と安全性を検討した。殆どの症例で他の抗マラリア薬との併用が行われていたが、初期治療として本薬剤を数日間単独使用して、その効果を評価できた症例が 6 例みられた。6 例のうち 4 例は重症マラリアの基準を満たしたが、それらを含めてアーテスネート坐薬の有効性が認められた。副作用として報告された項目、特に肝機能障害についてはマラリア自体によると考えられた。本薬剤の使用基準をより明確にする必要はあるが、使用価値がある薬剤で、我が国でも承認薬となれば有益と思われる。

A. 研究目的

重症マラリアは多くの場合、熱帯熱マラリアで生じるが、原則として非経口的抗マラリア薬、特に注射薬の投与が勧められている。このような注射薬として歴史的にキニーネが使われてきており、我が国でも本研究班が導入して多くの症例に使用され、救命に役立ってきた。しかし最近では、中国で 2,000 年の歴史を有するアーテミスニン(チンハオス)およびその誘導体、すなわちアーテミスニン系薬、なかでもアーテスネート注射薬の評価が高まっており、実際に流行地での比較試験でキニーネ注射薬よりも優れた効果が示されている。

ただし、アーテスネート注射薬は中国製であるために GPM 基準を満たしていないことが問題で、欧米先進国でも輸入マラリアに対しての使用が躊躇されてきた。しかし最近では欧米でも徐々に使用例が増え、特に重症度の高い症例の治療で優れた効果がみられ、一方副作用について特別な懸念はないと見做されるようにもなった。そして最近、世界保健機関(WHO)は中国製のアーテスネート注射薬に対して”Prequalification”としての品質保証を与え、欧米の輸入マラリア治療ガイドラインにおいても重症マラリアの第一選択治療薬に選ばれている。またランダム化試験ではないが、英国での輸入マラリアでの致死率、ICU 搬送率、

原虫消失率において、アーテスネート注射薬はキニーネ注射薬より優れていることが示された。

本研究班では 1999 年からアーテスネート坐薬を導入しており、その使用例が集まりつつある。アーテミスニン系薬の重要な薬剤は 1) アーテミスニン、2) アーテスネート、3) アーテメター、4) ジヒドロアーテミスニンであり、4) は 2) および 3) の活性代謝物でもある。これら 4 種類の全てにつき、経口薬と坐薬の両者があるが、坐薬での臨床データとしてはアーテスネートが最も多い。また、初めの 24 時間での原虫消失率でみると、アーテスネート坐薬はアーテメター筋注やキニーネ静注に比べて優れていることが示されている。

本研究班での薬剤使用は対照群を置いた臨床研究ではなく、薬剤使用報告書の記載も厳密には規定されていない。したがって、データの解釈には限界もあるが、今回アーテスネート坐薬使用例を解析して有効性と安全性の検討を試み、我が国での今後の治療に役立てることを目指した。

B. 研究方法

薬剤

アーテスネート坐薬はスイス Mepha 社の製造で(商品名 Plasmotrim Rectocaps)、1 個が 50 mg(小児用)あるいは 200 mg(成人用)を含む。これを平成 25 年 3 月までは東京大学医科学研究所、その

後は国立国際医療研究センターの研究分担者がスイス Mepha 社に注文し、国内到着後に関東信越厚生局薬事監視課より輸入許可を取得し、東京大学医科学研究所あるいは国立国際医療研究センターに保管した。そして、薬剤使用機関からの配付要請に応じて必要最小限度の供給を行なった。

症例

本薬剤の使用や用法・用量の選択は、原則として主治医により行われた。ただし、本研究班の研究者や協力者に相談があったときには、主治医に治療に関するアドバイスを行なっている。今回、2003～2013 年にアーテスネート坐薬を使用したマラリア症例で、治療報告書が提出されたものを解析対象とした。

解析は基本的に、主治医から提出された治療報告書の記載を元に行なった。ここでは主治医により、有効性(著効、有効、無効、悪化、不明、その他)と転帰(全治、軽快、再発、死亡、不明)の記載がなされ、副作用については、症状、発現状況、発現までの総投与量、副作用の程度/経過/処置、薬剤との関連性に関する記載欄がある。治療報告書の記載が不明確な場合、詳細な情報を得るために主治医に直接の問い合わせも行なった。

重症マラリアの基準

重症マラリアの基準としては 2007 年に発行された英国マラリア治療ガイドラインに則り、意識障害あるいは痙攣、腎不全(乏尿 $< 0.4 \text{ mL/kg/時}$ 、あるいは血清クレアチニン $> 3 \text{ mg/dL}$)、代謝性アシドーシス($\text{pH} < 7.3$)、低血糖($< 40 \text{ mg/dL}$)、肺水腫あるいは ARDS、重症貧血($\text{Hb} < 8.0 \text{ g/dL}$)、自然出血/DIC(血小板数 $< 3 \times 10^4/\mu\text{L}$)、ショック(血圧 $< 90/60$)、ヘモグロビン尿(G6PD 欠損なし)、黄疸($\text{T-Bili} > 3.0 \text{ mg/dL}$)、高原虫血症(non-immune では赤血球感染率 $> 2\%$ あるいは $10 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以上、semi-immune では赤血球感染率 $> 5\%$ あるいは $25 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以上)のいずれかを生じた場合とした。

倫理面への配慮

本研究班では厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」(平成 20 年 7 月 31 日全部改正)を遵守した薬剤使用を行なうべく、当時の研究代表者の所属機関の倫理審査委員会に研究計画書を提出し、平成 22 年 7 月 28 日付けで承認を取得した。それに当っては同指針に基づき、国内未承認薬使用に

伴う賠償・補償責任をカバーするための臨床研究保険契約を締結した。その後これを元に、各薬剤使用機関の代表者(薬剤使用責任者)が自らの倫理審査委員会から承認を取得した。

一般に、患者は本研究班の薬剤使用に当って、当該疾患の治療に当該薬剤の使用が最適であること、および起こりうる副作用などについて主治医より十分な説明を受け、納得し、当該薬剤の使用を承諾する旨のインフォームド・コンセントを書面で提出している。

C. 研究結果

属性、疾患

計 23 例の症例が解析対象となったが、そのうち日本国籍は 17 例、外国国籍が 6 例であり、外国籍としてはセネガル、オーストラリア、ガーナ、インドネシア、ナイジェリア、ザンビアが各 1 例ずつであった(表 1)。平均年齢(範囲)は全体では 39.4 歳(8～78)で、日本人では 44.0 歳(20～78)であった。性別は全体では男性 17 例(73.9%)、女性 6 例(26.1%)で、日本人では男性 11 例(64.7%)、女性 6 例(35.3%)で、平均体重は全体では 63.7kg(n=21)で、日本人では 63.2 kg(n=16)であった。マラリア原虫種は全体で熱帯熱マラリア 20 例(87.0%)、三日熱マラリア 3 例(13.0%)、日本人で熱帯熱マラリア 15 例(88.2%)、三日熱マラリア 2 例(11.8%)、であった。感染地としては熱帯熱マラリアでアフリカが 17 例(85.0%)、インドネシアが 3 例(15.0%)、三日熱マラリアでは、パプアニューギニア、“東南アジア”、ニジェールが各 1 例ずつであった。

薬剤使用

アーテスネート坐薬の用法・用量については、単回使用例、複数回使用例など様々なケースが見られた(表 1)。

23 例中 22 例で他薬剤との併用が行われ、併用薬としてはメフロキンが 14 例、キニーネ注射薬が 5 例、アーテメター・ルメファントリン合剤が 4 例、キニーネ経口薬、アトバコン・プログアニル合剤、ドキシサイクリン、アーテスネート注射薬が各 1 例であった(複数の併用例あり)。

薬剤の副作用

副作用あるいはその可能性は 5 例で報告され、

全て日本人であった。これらの中で4例に肝機能障害が記載されていた。また、29歳日本人女性患者では、治療終了後に“黒水熱”と思われる状態が発生したと記載されている。

薬剤の効果

既述の如く、本薬剤は殆どの場合に併用で用いられ、単独で用いられたのは三日熱マラリア1例に過ぎなかった。今回、最終的には併用であるが、初めの数日間はアーテスネート坐薬の単独使用で、その間の治療効果を評価できる例を選び出したが、それらは6例であり、内訳は熱帯熱マラリア5例、三日熱マラリア1例であった。熱帯熱マラリア症例の中で重症マラリアの基準を満たしたのは4例であり、それらの治療経過を下記に述べるが、転帰については全例で“完治”であった。

49歳の日本人男性はリベリアで熱帯熱マラリアに感染し、Hb 7.7の貧血を生じた。本薬剤による治療を開始し、第3治療病日には解熱し、第4治療病日には無性マラリア原虫は陰性化した。そして、第6治療病日に後療法としてメフロキンが投与された。

43歳の日本人男性はナイジェリアで熱帯熱マラリアに罹患し、高原虫血症(赤血球感染率3.5%)を生じた。本薬剤による治療を開始し、第3治療病日には解熱および原虫陰性化が見られている。そして、第4治療病日に後療法としてメフロキンが投与された。

56歳の日本人男性はスーダンで熱帯熱マラリアに罹患し、意識障害、高原虫血症(赤血球感染率5.0%)、血小板減少($1.4 \times 10^4/\mu\text{L}$)、腎不全(血清Cr 3.0 mg/dL)、T-bili 3.3 mg/dLなど複数の重症マラリア項目が見られた。本薬剤による治療を開始し、第4治療病日には解熱と原虫陰性化が見られたが、腎不全のために2回血液浄化療法を行い、第12治療病日に後療法としてメフロキンが投与された。

34歳の日本人女性はマダガスカルで熱帯熱マラリアに感染し、意識障害、高原虫血症(赤血球感染率12.3%)、血小板減少($1.8 \times 10^4/\mu\text{L}$)、T-Bili 6.1 mg/dLなど、複数の重症マラリア項目を示した。本薬剤による治療を開始し、投与最終日の第4治療病日には赤血球感染率0.08%に改善し、第5治療病日に後療法としてメフロキンが投与された。

他に、重症マラリアに分類されない熱帯熱マラリア1例(年齢不詳のナイジェリア人男性で、ナイジェリアで感染)では、本薬剤による治療が開始され、第4治療病日には解熱と原虫陰性化が見られ、第5治療病日にメフロキンが投与され、転帰は“完治”であった。また、三日熱マラリア1例(31歳のオーストラリア人男性で、パプアニューギニアで感染し、日本で発病)では本薬剤による治療が開始され、速やかに解熱したが、原虫消失が見られなかったとして(詳細不明)、第6治療病日にメフロキンが投与された。オーストラリアに帰ったためか、転帰の確認はできなかった。

D. 考察

本研究班の前身は1980年に発足したが、初期の頃は特に抗マラリア薬に焦点を絞り、重症マラリアの治療薬としてキニーネ注射薬を導入し、多くの症例で救命に貢献してきた。そして1999年以降にはアーテスネート坐薬も導入し、重症マラリアにおける第二選択薬として位置づけてきた。

アーテスネート坐薬のデータはタイやミャンマーの成人において出されている。1回200 mgを約3日間にわたって投与したものが多く、総量として1,200 mg~1,600 mgで、その後にメフロキン総量1,250 mgを用いていたが、根治率として89~96%と報告されている。その後に南米(エクアドル)、アフリカ(ケニア、ガボン)などにおいて小児も含めて臨床試験が行われている。

WHOは本薬剤に対して、流行地での重症あるいは重症が疑われるマラリアで、キニーネやアーテスネートの注射薬がすぐには使用可能でない場合に、合併症の進展や死亡を防ぐ目的で緊急避難的に使用することを推奨している。その場合には10 mg/kg(ときに20 mg/kg)の高用量が用いられており、その効果が評価されている。

今回経過を示した重症マラリア4例のうち、2例は重症度の高い症例であったが、両者ともにアーテスネート坐薬が初期治療薬として効果的であったと思われる。他の2例は貧血あるいは高原虫血症で重症マラリアに分類されたが、重症度は低い方であった。他の重症マラリア症例ではほぼ同時期に他剤が投与されているので、本薬剤の効果を判定することはできなかった。

副作用としては悪心・嘔吐、食欲不振などの自覚症状とともに肝機能障害が複数例で報告された。しかし、肝機能障害はマラリア自体でも生じるもので、有効な治療開始後にも悪化することはよく見られる。また、副作用としても他剤によるものを否定できない。

29歳日本国籍の女性はガーナで熱帯熱マラリアに感染し、第1治療病日にアテスネート坐薬400mgを1回、キニーネ注射薬375mgを1回、第2～4治療病日にアテメター・ルメファントリン合剤を計24錠投与され、マラリアは治癒した。しかし、服薬終了6日後にヘモグロビン尿、溶血性貧血、肝障害、腎障害を生じ、いわゆる“黒水熱”と思われる状態となり、直接クームス試験が陽性を示した。最近、ヨーロッパにおける輸入重症マラリアで治療後に“delayed hemolysis”を生ずる症例が問題となっており、それらはアテスネートの単独あるいは併用使用例であった。現在までに“delayed hemolysis”による死亡例は報告されていないが、腎障害などを生ずる可能性があり、注意すべきものである。本症例が“delayed hemolysis”であるかどうかは、詳細な検討が必要である。

本薬剤は坐薬のためか、個人間での薬物動態パラメータに比較的大きなばらつきを生じるが、吸収が不良な個人においてもマラリア原虫殺滅効果があると報告されている。そして、心伝導障害のためにキニーネ注射薬を使用できない症例や、キニーネ注射薬がすぐには入手可能でない場合、重症マラリアでも比較的重症度が低い場合などに使用価値があると思われる。

我が国での使用基準をより明確にすべく、さらなる症例の解析を行なうことが望まれるが、我が国でも承認薬となれば大変有益と思われる。

E. 結論

アテスネート坐薬の使用基準をより明確にする必要があるが、使用価値があると思われ、我が国でも承認薬となれば大変有益と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 木村幹男, 清水少一: 第13回国際旅行医学会議におけるトピックス (1) -マラリア-. モダンフィジシャン 33:1455-1457, 2013
- 2) 清水少一, 木村幹男: 第13回国際旅行医学会議におけるトピックス (2) -マラリアを除く感染症-. モダンフィジシャン 33:1587-1589, 2013
- 3) 木村幹男, 丸山治彦. 67. 抗原虫薬・抗蠕虫薬. 治療薬ハンドブック 2014. じほう, p1383 抗蠕虫薬. , 2014.
- 4) Kikuchi T, Koga M, Shimizu S, Miura T, Maruyama H, Kimura M. Efficacy and safety of paromomycin for treating amebiasis in Japan. Parasitol Int 62:497-501, 2013.
- 5) Kimura M, Fujii T, Carroll B. Prioritising immunisations for travel: International and Japanese perspectives. Travel Med Infect Dis (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmaid.2013.11.007>.

2. 学会発表

- 1) Shimizu S, Kikuchi T, Koga M, Maruyama H, Kimura M. Primaquine use as the anti-malarial relapse drug in Japan – Possible relevance of body weight-adjusted doses to the drug efficacy. 13th Conference of the International Society of Travel Medicine. Maastricht, 2013 (May).
- 2) 木村幹男, 古賀道子, 菊地 正, 清水少一, 三浦聡之, 丸山治彦. 熱帯病治療薬研究班(略称)の3年間(平成22～24年度). 第62回日本感染症学会東日本学術集会/第60回日本化学療法学会東日本支部総会・合同大会, 東京 2013年(10～11月)

G. 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. アーテスネート坐薬の使用症例

患者			マラリア			治療			
性 / 年齢	体重 (kg)	国籍	種別	感染地	重症化を示す合併症(治療開始後の所見も含む)	本薬剤の用法・用量 (治療病日)	他の抗マラリア薬	副作用	転帰
男/22	60	日本	Pf	ケニア	総ビリルビン 7.1 (直接 0.3, 間接 6.8)	計 6 回投与(day 2 以降)	キニーネ注射薬 1 回 500 mg を 3 回→メフロキン塩基計 1,250 mg (day 1)	悪心/嘔吐、肝機能障害	完治
女/20	55	日本	Pf	ガーナ	意識障害, 原虫数 25×10^4 , MRI で脳マラリア, 認知機能低下, 筋力低下, 血小板 PLT 1.2×10^4	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~5)	メフロキン塩基計 1,250 mg (day 1 より開始)	無	完治
男/49	68	日本	Pf	リベリア	Hb 7.7	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~5)	メフロキン 計 1,500 mg(day 6)	無	完治
男/33	80	日本	Pf	南スーダンまたはザンビア	赤血球感染率 4.8%, 血小板 1.5×10^4 , 総ビリルビン 3.6	800 mg を 1 回(day 1)	アーテメター/ルメファントリン合剤計 24 錠 (day 1~3)	無	完治
男/53	76	日本	Pf	マラウイ	言語障害, 歩行不安定, 原虫数 73×10^4 , 血小板 0.8×10^4 , 総ビリルビン 11.0 (直接 8.9), 血清 Cr 10.6	200 mg を 1 回(day 1)	アーテスネート注射薬(国内未承認) を計 5 回 (総量 360 mg, day 1~4)、アーテメター/ルメファントリン合剤計 24 錠 (day 5~7)	無	完治
女/35	50	日本	Pf	ブルキナファソ	赤血球感染率 9%, 血小板 1.6×10^4	400 mg/日(day 5) →200 mg/日(day 6~9)	メフロキン塩基計 1,250 mg (day 1~2)	悪心、肝機能障害	完治
女/29	54	日本	Pf	ガーナ	赤血球感染率 12.1%, 総ビリルビン 5.8 (直接 4.2)	400 mg を 1 回(day 1)	キニーネ注射薬 375 mg を 1 回 (day 1)、アーテメター/ルメファントリン合剤計 24 錠(day 2~4)	不明(ただし、後日黒水熱の発生?、肝障害、腎障害)	完治
男/08	26	セネガル	Pf	セネガル	特別な記載なし	200 mg/日(day 3) →100 mg/日(day 4~7)	メフロキン塩基計 750 mg (day 1~2)	無	完治
男/31	ND	オーストラリア	Pv	パプアニューギニア	特別な記載なし	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~5)	メフロキン塩基計 1,500 mg (day 6~8)	無	未確認
男/40	76	ガーナ	Pf	ガーナ	特別な記載なし	600 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~4)	メフロキン塩基計 2,000 mg (day 1)	無	完治
男/23	69	日本	Pv	東南アジア	赤血球感染率 2%	400 mg/日(day 2) →200 mg/日(day 3~6)	メフロキン塩基計 1,500 mg (day 1)	食欲不振、肝機能障害	全治
男/46	72	インドネシア	Pf	インドネシア	赤血球感染率 4%, 血小板 2.8×10^4 , 総ビリルビン 4.2	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~6)	ドキシサイクリン 200 mg/日 (day 2~8)	無	全治
男/20	55	日本	Pf	インドネシア	総ビリルビン 8.3	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~5)	メフロキン塩基計 1,250 mg (day 1~2)	嘔吐	完治

男/43	60	日本	Pf	ナイジェリア	赤血球感染率 3.5%	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~3)	メフロキン塩基計 1,000 mg (day 4)	無	完治
男/56	61	日本	Pf	スーダン	意識障害, 赤血球感染率 5.0%, 血小板 1.4×10^4 , 急性腎不全(血清 Cr 3.0), 総ビリルビン 3.3	400 mg/日 (day 1~3)	メフロキン塩基計 500 mg を 2 回 (day 12)	無	完治
男/58	83	日本	Pf	セネガル またはモリタニア	赤血球感染率 4.8%, 血清 Cr 6.9, PT 57.8%	200 mg を 3 回(時期不明)	キニーネ注射薬 625 mg を 2 回(時期不明)、メフロキン塩基計 750 mg(キニーネ終了 12 時間後)	無	完治
女/34	50	日本	Pf	マダガスカル	意識障害, 赤血球感染率 12.3%, 血小板 1.8×10^4 , PT 16.5 秒, 総ビリルビン 6.1	200 mg/日(day 1) →400mg/日(day 2) →200 mg/日(day 3~4)	メフロキン塩基計 1,000 mg (day 5)	無	完治
男/69	63	日本	Pf	アフリカ	高度の疲弊, 行動異常, 血小板 1.5×10^4 , 総ビリルビン 11.2, 血清 Cr 3.8	200 mg を 1 回 (day 1)	キニーネ注射薬 500 mg を 1/4 投与 (day 1)	不明	死亡
女/33	ND	日本	Pv	ニジェール	特別な記載なし	200 mg/日(day 1) →400 mg/日(day 2) →200 mg/日(day 3~5)	なし	無	完治
男/ND	75	ナイジェリア	Pf	ナイジェリア	特別な記載なし	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~4)	メフロキン塩基計 1,000 mg(day 5)	無	完治
男/37	78	ザンビア	Pf	ザンビア	総ビリルビン 4.7	400 mg/日(day 1) →200 mg/日(day 2~4)	キニーネ経口薬 1.8 g/日(day 1~7)	無	完治
女/78	65	日本	Pf	ケニア	意識障害, ショック, 血小板 2.3×10^4 , 赤血球感染率 8.2%	200 mg (day 1)	キニーネ注射薬計 1,250 mg 塩基 (day 1)→500 mg 塩基(day 2)、アトバコン・プログアニル合剤 3 錠(day 2)	無	完治
男/49	62	日本	Pf	インドネシア	Hb 6.5%, 総ビリルビン 5.5, 赤血球感染率 13%	200 mg (day 1)	アーテメター・ルメファントリン合剤 計 24 錠(day 1~3)	無	完治

Pf: 熱帯熱マラリア、Pv: 三日熱マラリア

国内未承認医薬品の品質確保に関する研究

分担研究者 坂本 知昭 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部主任研究官

研究要旨 有効成分としてアーテスネートを含む抗マalaria薬である Plasmotrim 坐剤の品質確認のための簡易定量法の開発を行った。装置は蒸発光散乱検出器 (ELSD) を装備した高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い、オクタデシルシリル (ODS) 化シリカゲルを担体とするハイスループット逆相系カラムを分離のために選択した。HPLC 分析は内標準法を採用し、アーテスネートと同じセスキテルペン・ラクトン過酸化物に属するアーテメーターを内標準物質として用いた。分析対象物の分離はアセトニトリルと酸を添加した水の 2 種類の溶媒を組み合わせた混合液を移動相として溶離を行った。開発した分析条件におけるアーテスネート標準溶液の分析では、 $10\mu\text{g/mL} \sim 160\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で 0.9998 の相関係数を示し、良好な直線性を示した。またアーテスネートと内標準物質のピーク面積の比に基づく繰り返し注入精度 ($n=6$ 、相対標準偏差(RSD)) は 0.94% であった。Plasmotrim 坐剤中のアーテスネートの量 (平均値、 $n=3$) は表示量の 99.7% であり、有効成分は表示量通りに含まれていることが分かった。本研究の成果によって、Plasmotrim 坐剤中のアーテスネートの簡易検定が可能となった。

A. 研究目的

日本では未承認である稀少疾病用の医薬品について、それらの適用対象疾患に冒され、重篤な状態にある患者に対して安全に適用するために、研究班で輸入する未承認医薬品の“有効性及び安全性”を確保することを目的に本研究を行う。

海外ではすでに使用されているが、日本で未承認の医薬品である稀少疾病用治療薬の有効性と安全性を確保するためには、それらの医薬品の品質について検討し、一定の品質の医薬品を使用することが必要である。そこで、本研究班が輸入し、稀少疾病用治療薬として使用する医薬品の品質評価を行い、将来の国内承認に備える。

今年度は、マalaria治療薬である Plasmotrim 坐剤を研究対象として、有効成分であるアーテスネート及び類縁物質 (不純物) であるジヒドロアーテミシニン (分解物) ならびにアーテミシニン (合成原料) の同時分析条件の開発を行った。アーテミシニンおよびその誘導体であるアーテメーター、アーテスネート、ジヒドロアーテミシニンは UV 吸収を持たない化合物であり、UV 吸収がない化合物でも検出可能な蒸発光散乱検出器 (ELSD) を用いた高速液体クロマトグラフィー法を用いた分析条件の開発を行った。

B. 研究方法

B-1. 標準溶液を用いた各化合物の分離条件の検討

アーテスネート、アーテメーター、ジヒドロアーテミシニンの各化合物は市販試薬 (純度 98.0%以上) を購入し、標準物質として用いた。

クロマトグラフィーカラムは、逆相系カラムとしてオクタデシルシリル (ODS) 化シリカゲルカラムを選定した。KINETEX (50 mm x 2.1 mm I.D., 粒径 1.7 μm , Shimadzu GLC) を用いた。移動相としてアセトニトリルと 0.2M トリフルオロ酢酸 (TFA) の 2 液の混合液を用い、2 液の混合比を経時的に変化させるグラジエント条件 (アセトニトリルの割合: 42 v/v% (0 min) \rightarrow 45 v/v% (3 min) \rightarrow 95 v/v% (3.5 min) \rightarrow 95 v/v% (25 min) \rightarrow 42 v/v% (25.5 min) \rightarrow 42 v/v% (30 min)) を初期条件とし、Plasmotrim 坐剤の抽出物中の分析対象物質の分離を行うための最適化を行った。

高速液体クロマトグラフィーシステムは、ELSD 検出器 (ELSD-LT II、島津製作所) を接続した島津 Class VP-10 HPLC system を用いた。検出条件は ELSD チューブの圧力及びネブライザー温度をそれぞれ 350 kPa 及び 30 $^{\circ}\text{C}$ に設定した。また、注入量は 5 μl に設定した。カラム温度は 40 $^{\circ}\text{C}$ 、流速は 0.2 mL/min に設定した。

B-2. Plasmotrim 坐剤の前処理

Plasmotrim 坐剤は一般的な油脂基剤による固形状坐剤ではなく、レクタールカプセルという油脂製カプセル内に液状の主薬成分等を含む処方となっている(図1)。このため、カプセルを切断すると内容物が漏出する可能性があり、カプセルごと溶解し分析対象物を溶媒中に溶解させる方法を採用した。

Plasmotrim 坐剤 1 個をとり、100mL のメスフラスコに入れた。アセトニトリル/水(60:40)を 80mL 加えてカプセルが崩壊するまで十分に振とうし、さらにアセトニトリル/水(60:40)を加えて正確に 100mL とした。この液 2mL を正確にとり、50mL のメスフラスコに入れ、アセトニトリルを加えて正確に 50mL とした。この液 4mL に内標準溶液 4mL を加えて試料溶液とした(40 μ g/mL)。内標準溶液は、アーテメターをアセトニトリルに溶かし、315 μ g/mL の濃度の溶液に調製したものをを用いた。

(倫理面への配慮)

動物実験、臨床研究など倫理面への配慮を必要とする研究は行っていない。

C. 研究結果

C-1. 標準溶液を用いた各化合物の分離条件の最適化及び分析法の適格性評価

図2に本研究で初期検討に用いた分離条件により得た標準溶液のクロマトグラムを示す。本条件は、本研究班で保管対象としているセスキテルペン・ラクトン過酸化物を含むほとんどの製剤を対象とする簡易検定条件であり、リアメット錠に含まれるセスキテルペン・ラクトン過酸化物以外の抗マラリア成分であるルメファントリンも同時に定量することが可能である。有効成分のアーテスネートは約 3.3 分に、また内標準物質のアーテメターは約 8.1 分に検出された。アーテスネートの合成原料であるアーテミシニンは約 3.8 分に、分解物のジヒドロアーテミシニンは約 2.2 分にそれぞれ溶出した。アーテスネートの合成経路及びそれぞれの化合物の化学構造を図3に示す。ジヒドロアーテミシニンはジアステレオマー(体及び体、図中で化学結合を波線で表記)があるが、本研究では分離の対象としなかった。

Plasmotrim 坐剤はルメファントリンを含まないこと、また初期条件により予試験を行ったところ、アーテミシニンならびにジヒドロアーテミシニンは検出されなかったため、アーテスネートとアーテメターの 2 化合物の検出を

対象として溶出時間を早めるために分析条件の最適化を行った。本条件でアーテスネートは 2.2 分、内標準物質のアーテメターは 4.9 分に溶出した。図4に標準溶液(アーテスネート:160 μ g/mL、アーテメター:315 μ g/mL)から得たクロマトグラムを示す。移動相の組成について、アセトニトリル/0.2M TFA(50:50)のアイソクラティック条件で良好な分離性ならびに分析時間の短縮を達成することができた。内標準物質に対するアーテスネート感度比は約 14 倍であり、内標準物質の添加量はアーテスネートの約 2 倍とした。また、両化合物の分離度は 3.8 であった。

アーテスネート濃度 10, 20, 40, 80, 160 μ g/mL の標準溶液から得たアーテスネートと内標準物質のピーク面積比 - 濃度プロットから得られた一次回帰式は $y=1.54x-5.87$ 、また相関係数は 0.9998 ($n=3$) であり、良好な直線性を示した(図5)。また、アーテスネート(40 μ g/mL)とアーテメター(315 μ g/mL)から得た両化合物のピーク面積の比(アーテスネート/アーテメター)の相対標準偏差は 0.94% であった。

C-2. Plasmotrim 坐剤中のアーテスネートの定量

Plasmotrim 坐剤(表示量 200mg)のアーテスネートの定量結果($n=3$)を表1に示した。試料溶液と同濃度の標準溶液から得たアーテスネートとアーテメターの比に対する試料溶液から得たアーテスネートとアーテメターの比の百分率で定量値を表した。試料溶液から得たクロマトグラムを図6に示す。アーテスネートが 2.1 分、内標準物質のアーテメターが 4.6 分に溶出し、標準溶液から得た保持時間と同様の保持時間を示した。1 坐剤の定量値は試料溶液を 3 回測定して得た値の平均値を用いた。3 坐剤の定量値は 99.54% ~ 100.02% の範囲を示し、その平均含量は 99.7% \pm 0.28% であった。

D. 考察

本研究では、Plasmotrim 坐剤中のアーテスネートの簡易検定法を HPLC-ELSD 法により達成することができた。本法は当初、アーテスネートなど一連のセスキテルペン・ラクトン過酸化物の一斉分析に適用できる条件を用いたが、分解物であるジヒドロアーテミシニンが予試験で検出されなかったため、分析時間を短縮するために分離条件を改良した。ただし、合成出発原料であるアーテミシニン及び分解物のジ

ヒドロアーテミシニン[®]は、両化合物とも抗マラリア作用をもつ有効成分として使用されており、混在する場合でも品質への影響は小さいものと考えられた。定量結果では、99.7%の定量結果を得ており、表示量通りのアーテスネート[®]を含有していることが確認できた。

E．結論

KINETEX カラムを用いた HPLC-ELSD 法により、精度の良い坐剤中アーテスネートの定量法を開発することができた。本研究により、本研究班が輸入する Plasmotrim 坐剤の簡易検定法を提案することができた。

F．研究発表

- 1．論文発表
該当なし
- 2．学会発表
該当なし

G．知的財産権の出願・登録状況 特になし

添付資料 図表



図1 Plasmotrim 坐剤（レクタカプセル）の外観と割断面

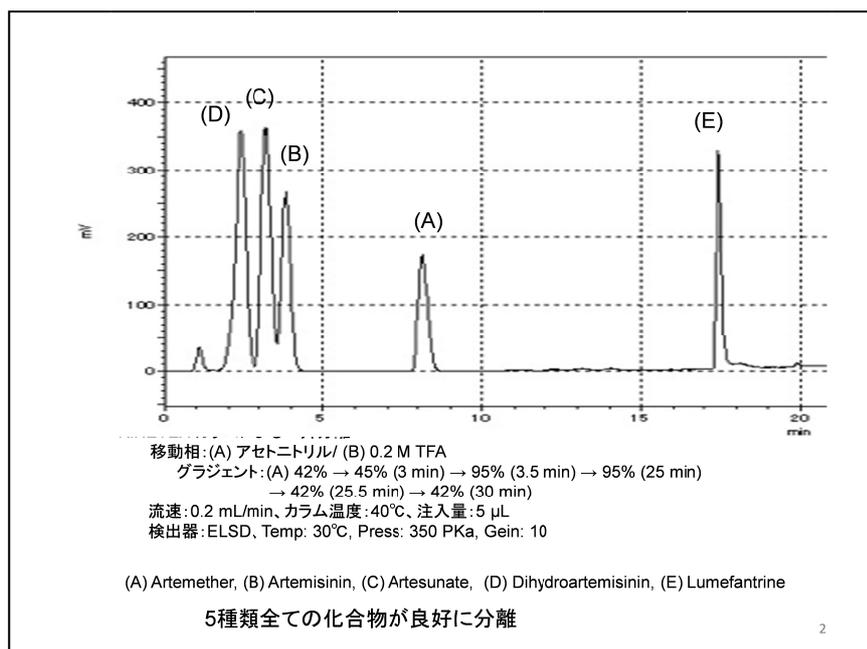


図2 本研究で初期検討に用いた分離条件によるセスキテルペン・ラクトン過酸化物及びルメファントリン標準溶液のクロマトグラム

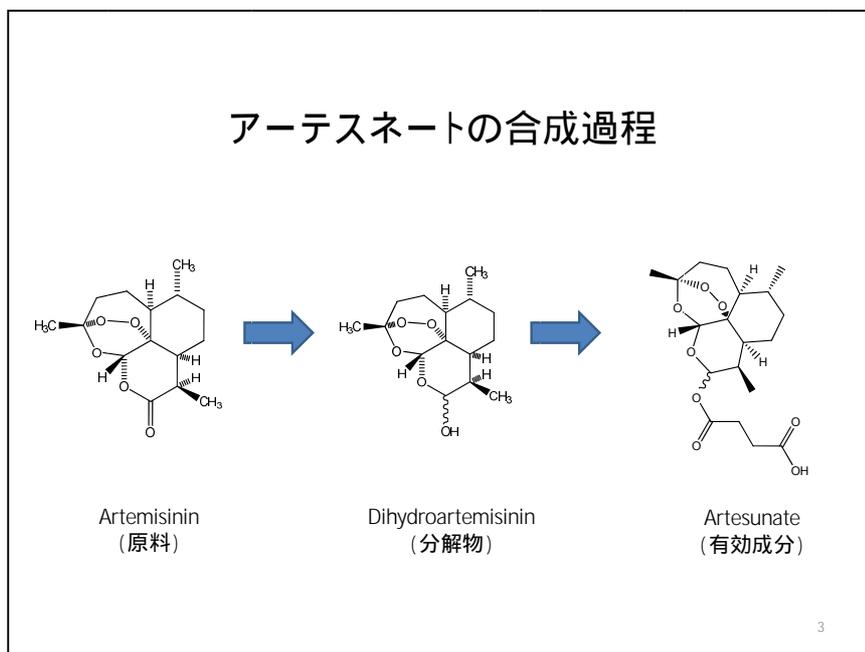


図3 アーテスネートの合成経路

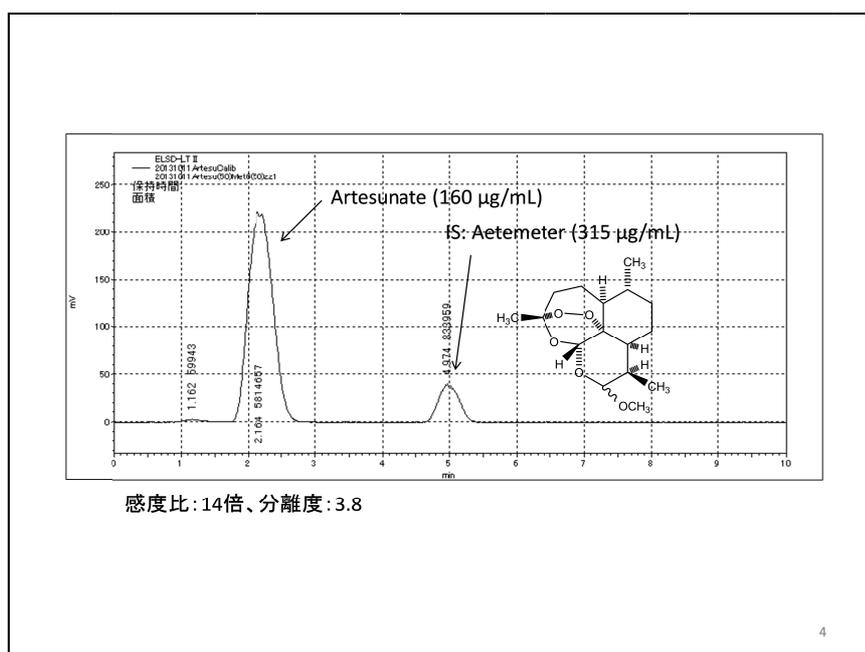


図4 改良条件におけるアーテスネートとアーテメーターの標準溶液から得たクロマトグラム

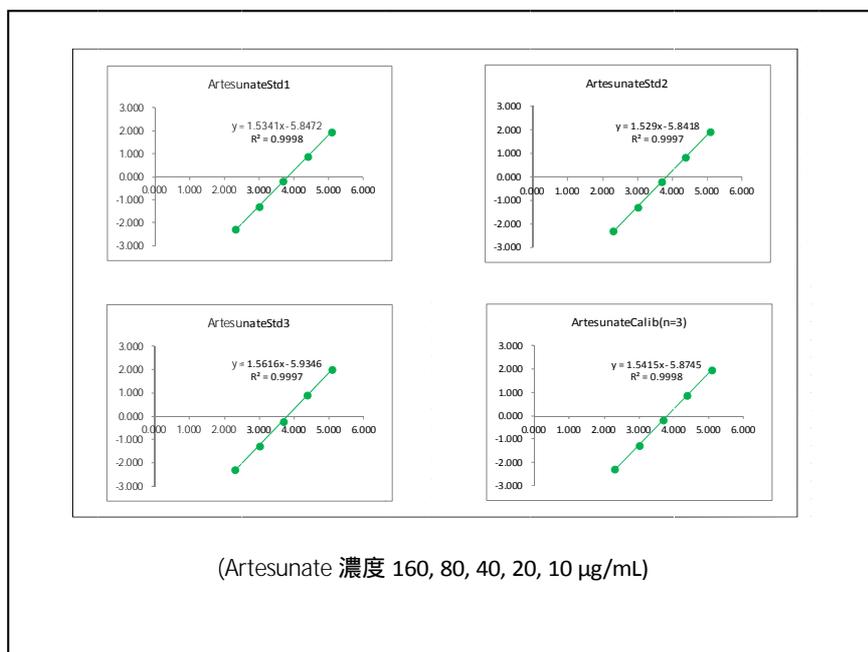


図5 アーテスネートと内標準物質のピーク面積比と濃度の相関図

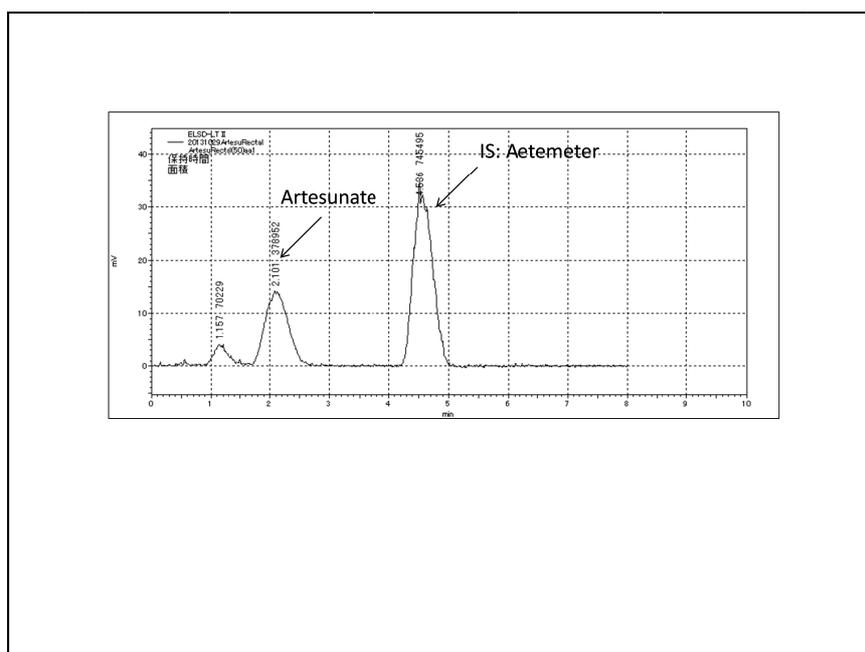


図6 試料溶液 (Plasmotrim 坐剤内容物の抽出物) から得たクロマトグラム

表1 Plasmotrim 坐剤 (表示量 200mg) のアーテスネートの定量結果 (n=3)

	rt (min)	面積値												
		Artesunate Std (40 µg/mL)			No.1			No.2			No.3			
(1)	Sample Artesunate	2.19	546153	535164	556535	607414	613204	612213	607414	613204	612213	719307	741730	728079
	IS Artemether	4.79	667150	654104	679543	748234	752601	750234	748234	752601	750234	883862	908046	890013
	ln(Sample area/IS area)		0.819	0.818	0.819	0.812	0.815	0.816	0.812	0.815	0.816	0.814	0.817	0.818
	平均値		0.819			0.814			0.814			0.816		
	標準偏差		0.000			0.002			0.002			0.002		
	含量 (%)		99.546			99.463			99.463			99.712		
	標準偏差		0.144											
	相対標準偏差 (%)		0.144											

	rt (min)	面積値												
		Artesunate Std (40 µg/mL)			No.1			No.2			No.3			
(2)	Sample Artesunate	2.04	376967	362611	375560	378952	374284	386353	396571	373465	390131	387165	384859	369113
	IS Artemether	4.51	740130	718213	705909	745495	712872	764606	759239	735516	765237	749388	738513	735715
	Sample area/IS area		0.509	0.505	0.532	0.508	0.525	0.505	0.522	0.508	0.510	0.517	0.521	0.502
	平均値		0.516			0.513			0.513			0.513		
	標準偏差		0.014			0.011			0.008			0.010		
	含量 (%)		99.535			99.491			99.571			99.544		
	標準偏差		0.041											
	相対標準偏差 (%)		0.041											

	rt (min)	面積値												
		Artesunate Std (40 µg/mL)			No.1			No.2			No.3			
(3)	Sample Artesunate	2.04	382745	393044	399081	398653	407877	402256	400256	396904	412099	415322	407494	419180
	IS Artemether	4.51	716350	753434	767774	758875	772734	769392	749993	772490	780479	792555	792780	778164
	Sample area/IS area		0.534	0.522	0.520	0.525	0.528	0.523	0.534	0.514	0.528	0.524	0.514	0.539
	平均値		0.525			0.525			0.525			0.526		
	標準偏差		0.008			0.003			0.010			0.012		
	含量 (%)		100.019			100.014			99.983			100.061		
	標準偏差		0.039											
	相対標準偏差 (%)		0.039											

3錠中の平均含量: 99.7 (%)
 標準偏差: 0.276
 相対標準偏差 (%): 0.277

マラリアの診断および治療に関する探索的研究

分担研究者 春木 宏介 臨床検査部 教授
研究協力者 日谷 明裕 同 講師

研究要旨：イムノクロマト法によるマラリア診断の有用性の検討をした。研究班に参加し治療薬を保管している 31 施設にマラリア診断キット BinaxNow Malaria(アリアメディカル社)を配布、マラリアを疑う熱性疾患患者に用いて鑑別診断を行った。本年は 60 例のイムノクロマトを使用したマラリア診断の報告が寄せられた。検査の陽性数は合計 7 例であった。ギムザ染色で確認の上マラリアと診断された以外の 53 例は非マラリアであった。非マラリア疾患としては呼吸器疾患が最も多かった。熱帯熱マラリアが最も多く 4 例で三日熱が 2 例であった。Binax Malaria において感度、特異度、陽性、陰性的中率ともに 100%と良好でこれらのキットの有用性が証明された。イムノクロマト法は簡便であるため、一般外来あるいは救急外来でのキットの導入は海外帰国者のマラリアの鑑別に有用であり、早期診断による治療あるいは専門機関への早期転送による重症化の予防に寄与する。早期の体外診断薬としての認可が望まれる。

A. 研究目的

マラリアの診断において致死的结果を招く熱帯熱マラリアの治療にはまず診断を確定することから始まる。一方、腸チフスやデング熱といった他の熱帯由来の輸入発熱性疾患との鑑別も海外帰国者の診療において重要となる。マラリアの診断にはギムザ染色が必要かつ不可欠であることは周知の事柄である。一方ギムザ染色でマラリア、特に低い原虫血症の場合には技師あるいは医師にとって、熟練が必要となる。わが国のようにマラリアが常在しない国においては臨床経験が少なく物理的に研鑽をつむことは難しい。これが我が国において診断治療の遅れから不幸な転機をとる熱帯熱マラリア症例が後を絶たない原因となっている。この意味でイムノクロマト法すなわち Rapid diagnostic test(RDT)は簡便で精度が高く信頼できる検査法として考えられる。本研究では過去 RDT を用いてマラリアの診断を行いその感度特異度の

データを収集してきた。本年度も解析に必要な症例を収集するため昨年度に引き続きデータを収集することが目的である。

B. 研究方法

イムノクロマト

研究班に参加し治療薬を保管している 31 施設にマラリア診断キット BinaxNow Malaria (アリアメディカル社)を配布、マラリアを疑う熱性疾患患者に用いて鑑別診断を行った。同時にギムザ染色も行った。ギムザ染色陰性でキット陽性となった場合には、さらにギムザ染色を継続しておこない虫体発見を試みた。

倫理面への配慮

研究対象者に対する人権擁護上の配慮としては名前など個人情報は極力記載せず、性別、年齢、渡航場所、診断名に限定した。研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と

同意（インフォームド・コンセント）を行った。

C. 研究結果

報告症例数

本年は 60 例のイムノクロマトを使用したマラリア診断の報告が寄せられた。症例の属性は図 1、表 1 に示すように日本人が約 80%であった。

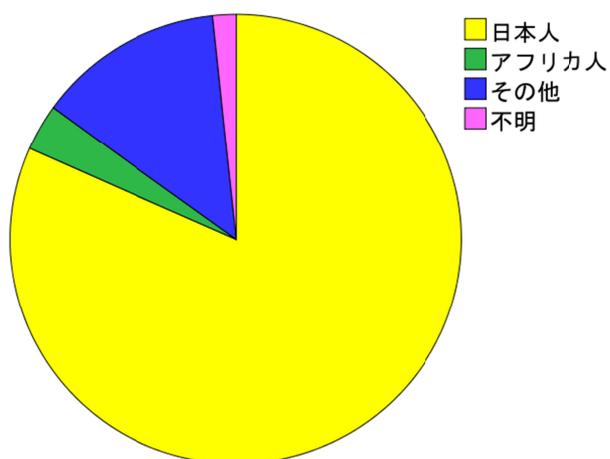


図 1

国籍		度数	パーセント
有効	日本人	49	81.7
	アフリカ人	2	3.3
	その他	8	13.3
	不明	1	1.7
	合計	60	100.0

表 1

また男女比は図 2、表 2 に示すようにほぼ同数であった。

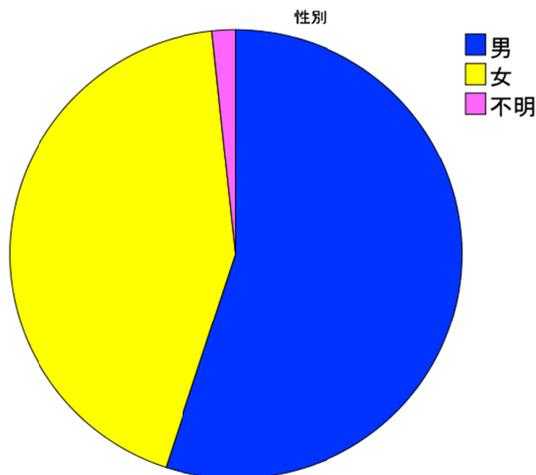


図 2

性別		度数	パーセント
有効	男	33	55.0
	女	26	43.3
	不明	1	1.7
	合計	60	100.0

表 2

検査の陽性数は合計 7 例であった。ギムザ染色で確認の上マラリアと診断された以外の 53 例は非マラリアであった。非マラリア疾患としては呼吸器疾患が最も多かった（図 3、表 3）。

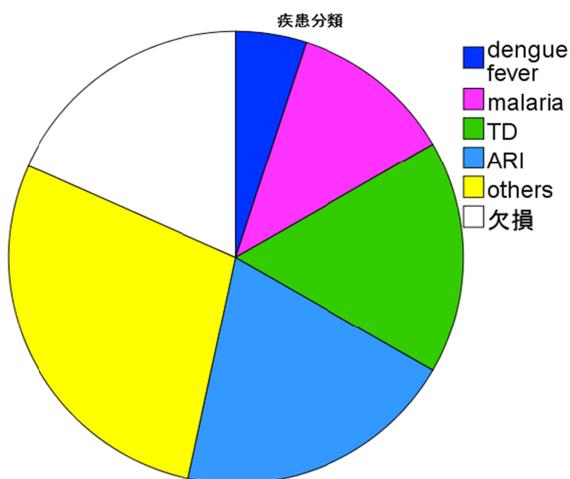


図 3

疾患分類

		度数	パーセント
有効	dengue fever	3	5.0
	malaria	7	11.7
	TD	10	16.7
	ARI	12	20.0
	others	17	28.3
	合計	49	81.7
欠損値	missing value	11	18.3
合計		60	100.0

表 3

診断

検査結果では熱帯熱マラリアが最も多く4例で三日熱が2例であった。Binax Malariaにおいて感度、特異度、陽性、陰性的中率ともに100%と良好でこれらのキットの有用性が証明された(図3)。

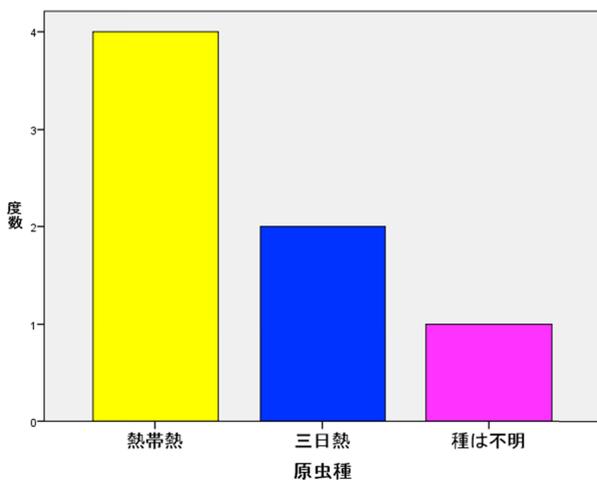


図 4

原虫種

		度数	パーセント
有効	熱帯熱	4	6.7
	三日熱	2	3.3
	種は不明	1	1.7
	合計	7	11.7

表 4

疾患分類と検査キット結果のクロス表

		検査キット結果		合計
		陰性	陽性	
疾患分類	その他の疾患	52	0	52
	マラリア	0	6	6
合計		52	6	58

表 5

D. 考察

マラリアの診断方法としてはギムザ染色が必須である。専門家ではない検査技師や医師は熟練度が不足し診断に躊躇するケースが多い。特に種の鑑別は至難の業である。また少数寄生の場合の判断も困難である。抗原を検出するイムノクロマト法(RDT:rapid diagnostic test)としてはマラリア原虫の pLDH(plasmodium lactate dehydrogenase)や HRP (Histidine Rich Protein), Aldolase 等を検出するものがあり簡易に行うことができることが特徴である。反応時間は 10 分であり外来でも可能である。これらのうち HRP を検出するものは感度が高く少数寄生でも検出することができる。アメリカの FDA で認可されている BinaxNow Malaria の検討を行ったが偽陰性、偽陽性は認められず、またプロゾーン現象も報告されなかった。BinaxNow Malaria は熱帯熱マラリアの HRP とその他のマラリアの Aldolase を検出するものである。現在マラリアの RDT はわが国ではいまだに体外診断薬としては認可されておらず研究用試薬である。保険請求もできない。イムノクロマト法は簡便であるため、一般外来あるいは救急外来でのキットの導入は海外帰国者のマラリアの鑑別に有用であり、早期診断による治療あるいは専門機関への早期転送による重症化の予防に寄与する。早期の体外診断薬としての認可が望まれる。

E. 結論

本研究班では RDT(イムノクロマト法)について研究を進めてきた。現在まで感度特異度それぞれ 100%であり今後体外診断薬としての認可が望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 党雅子、矢沢淳子、日谷明裕、相良博典、叶一乃、春木宏介

当院において肺非結核性抗酸菌症と診断された患者の臨床的・細菌学的特徴

臨床病理 61 : 8, 671-678, 2013

2. 日谷明裕、大槻和花、高谷周、党雅子、春木宏介

形態学的な診断が困難あった卵形マラリアの 1 例

臨床病理 61 : 1. 32-37. 2013

3. 日谷明裕、党雅子、叶一乃、大槻和花、木村幹男、春木宏介

ドイツ熱帯医学国際保健協会・マラリア予防ガイドライン(2012年4月の状況)

日本渡航医学会誌(別冊). 2013

2. 学会発表

1. 日谷明裕、党雅子、叶一乃、春木宏介. 診断に苦慮した、多発皮膚潰瘍と発熱を呈したパプアニューギニア帰りの一例 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会 2013年10月31日~11月3日 神戸

2. 党雅子、日谷明裕、叶一乃、貫田宗男、春木宏介: 旅行者下痢症に関する臨床的因子について 第 87 回日本感染症学会学術講演会 2013年6月5日~6日 横浜

3. 大槻和花、日谷明裕、党雅子、叶一乃、春木宏介: 当院渡航外来を受診した旅行者下痢症の下痢原性大腸菌検出に寄与する要因の検討 第 87 回日本感染症学会学術講演会 2013年6月5日~6日 横浜

4. 春木宏介: 海外渡航者の感染症と検査 4. 寄生虫感染症(シンポジウム 5) 第 25 回日本臨床微生物学会 2014年2月1日~2日 名古屋

5. 永野栄子、岡本友紀、飯草正実、矢沢淳子、島村明花、貫田あかり、山本芳尚、党雅子、吉田敦、春木宏介: 皮膚膿瘍より *Deinococcus radiodurans* が分離された一例 第 25 回日本臨床微生物学会 2014年2月1日~2日 名古屋

6. 島村明花、貫田あかり、矢沢淳子、飯草正実、永野栄子、岡本友紀、山本芳尚、日谷明裕、党雅子、吉田敦、菱沼昭、春木宏介: *Actinomyces turicensis* が検出された先天性耳瘻孔の一症例 第 25 回日本臨床微生物学会 2014年2月1日~2日 名古屋

7. 飯草正実、鈴木弘倫、岡本友紀、永野栄子、矢沢淳子、島村明花、貫田あかり、山本芳尚、日谷明裕、吉田敦、菱沼昭、春木宏介: *Mycobacterium mageritense* による頸部膿瘍の一例 第 25 回日本臨床微生物学会 2014年2月1日~2日 名古屋

8.小林義正、飯草正実、永野栄子、鈴木伸志、岡村彰子、多田則子、春木宏介：当院のインフルエンザ罹患状況と予防投与について 第 29 回日本環境感染学会 2014 年 2 月 14 日～15 日 東京

H. 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

寄生虫症の血清疫学と治療の評価

分担研究者 丸山治彦 宮崎大学 教授

研究要旨：宮崎大学医学部寄生虫学で施行した血清診断では、2013 年においても動物由来回虫類感染症が多数みられ、これらの多くはトキソカラ（イヌ回虫またはネコ回虫）症と考えられた。トキソカラ症は典型的な食品由来人獣寄生虫疾患であるが、食品由来感染症は家族内で症例が集積することがある。2013 年には、家族で海外旅行（韓国）に行った際に生肉・生レバーを摂取してトキソカラに感染したと考えられた症例が複数あった。国内では牛のレバーを生食用として販売・提供することが禁止されているため、海外での摂取に及んだと考えられ、海外における感染への注意喚起が必要と考えられた。また、2004 年から 2012 年の症例 254 例に基づいて、アルベンダゾールのトキソカラ症ないしブタ回虫症に対する有効性と安全性を検討した。その結果、アルベンダゾール使用例は他剤使用例よりも治癒率が高い傾向にあり（ $p=0.06$ ）、アルベンダゾールの単独使用例 217 例では、治癒 173 例、効果なし 44 例であった（治癒率 79.7%）。副作用出現率は 20.3%であり、ほとんどが軽度の肝機能障害であった。アルベンダゾールが有効であった症例と無効例の間には、年齢、性別、病型などについて有意の違いは認められなかった。

A. 研究目的

われわれは、multiple-dot ELISA 法による抗体スクリーニングと 96-well microtiterplate ELISA 法による精査を基本とした寄生虫症診断システムにより、多くの寄生虫病の診断に関わってきた。近年の総検体数は年間 300～400 前後で推移し、毎年 100 例弱を寄生虫症と診断している。

陽性判定症例の多くを占めるのは、トキソカラ症（イヌ回虫症またはネコ回虫症）やブタ回虫症などの、動物由来の回虫類感染症と肺吸虫症である。どちらも食品媒介性の人獣共通寄生虫症で、好酸球増多をともなう胸部異常陰影という共通する所見をもつ。また、どちらも食品由来の人獣共通寄生虫疾患で、肺吸虫症はイノシシや淡水産のカニというやや特殊な食品が原因だが、回虫類感染症はトリや牛のような一般的な食品により感染する。

われわれは、診断に関わった寄生虫疾患の発生動向を分析するとともに、トキソカラ症およびブタ回虫症の症例を分析し、感染者の特徴や感染リスクについて評価した。また、治療後のフォロー

アップ症例で、治療や副作用について記載のある症例を分析し、治療薬であるアルベンダゾールの有効性と安全性について検討を加えた。これは、現在アルベンダゾールは線虫感染症への保険適用がないため、データをまとめることによって将来の保険適用へ道筋を付けるためである。

B. 研究方法

1. 寄生虫症の血清疫学と回虫類による幼虫移行症の症例分析

(1) 血清疫学

当教室で受託した寄生虫症検査のなかで陽性と判定されたものについてデータをまとめるとともに、当教室だけでは診断がつかない症例に対しては他機関の専門家の意見を求め、原因虫種の同定に努めた。

寄生虫症の疫学研究については、ヘルシンキ宣言の精神に則り、疫学研究に関する倫理指針等の各種ガイドラインを遵守し、患者の人権を最大限尊重した。本研究課題は宮崎大学医学部医の倫理委員会の審査を受け承認されている。

(2) 酵素抗体法による感染寄生虫の決定

酵素抗体法 (ELISA) に用いる寄生虫抗原は、14 種類の寄生虫 (ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、マンソン孤虫、有鉤囊虫、イヌ糸状虫、イヌ回虫、ブタ回虫、アニサキス、顎口虫、糞線虫、日本住血吸虫、広東住血線虫) の粗抽出抗原を使用した。ただしイヌ回虫については、幼虫の分泌排泄 (ES) も使用し、さらに一部の症例ではプレート ELISA だけでなく市販のウエスタンプロットキット (LDBIO 社、フランス) による確定検査を実施した。

(3) トキソカラ症分析

検査依頼時の申込み書に記載された情報に基づき、患者の居住地・年齢・性別・海外渡航歴・生食歴等についてまとめた。患者情報のまとめに際しては対応表を作成しない連結可能匿名化をおこなった。

2. 回虫類による幼虫移行症治療におけるアルベンダゾールの有効性と安全性の検討

われわれは、血清診断その他によって寄生虫感染症との診断結果がでた場合には、主治医と連絡をとりながら治療を行ない、治療効果についてできるだけフォローアップをおこない、臨床所見、検査成績、血清抗体濃度の推移などを総合して転帰をまとめている。

今回は、当研究班が推奨する治療プロトコルで適応外薬のアルベンダゾールが第一選択薬として使用される回虫類の幼虫移行症について、転帰や副作用等について、2004 年から 2012 年までにフォローアップの抗体検査依頼があった 254 例について、フォローアップ時の検査申込み書に記載された情報を基に、薬剤の有効性や副作用について検討した。ただし、本研究では、患者をアルベンダゾール治療群とそれ以外の駆虫薬による治療群に振り分けるなどの介入は一切おこなっていない。

治療効果の有無については、症状や臨床検査データ、画像所見の改善ないし消失、血清抗体濃度の低下などから、回復 (治癒・軽快)、非回復 (変化なし) のいずれかとした。

C. 研究結果

1. 寄生虫症の血清疫学

(1) 検査受託全体の概要

2013 年の総検査依頼症例数は 310 件で、総検体数は 339 検体であった。治癒効果判定のためのフォローアップなどを除くと、新規診断依頼症例数は 266 で、そのうち 81 症例が寄生虫疾患であると診断された。

検査依頼のあった医療機関は全国 177 機関に広がっており、宮崎県以外で依頼件数の多い都道府県は、福岡 32 件、大阪 31 件、岡山 24 件であり、宮崎を含めたこれら 4 県で全体の 41% に達した。反対に、検査依頼が 1 件もなかった県には、青森、岩手、秋田、石川、富山、島根、鳥取など、東北・北陸・山陰が多かった。検体の陽性率では東京都が 17 例中 14 例の陽性ともっとも高く、医師が寄生虫疾患に比較的慣れていることがうかがわれた (表 1)。

新規依頼分の検体の内訳では、全 292 検体中、血清が 252、胸水等その他体液が 28、糞便 5、病理スライドや画像 4、虫体が 3 検体であった。つまり抗体検査が検査全体の 95.9% を占めていた。

表 1 検査依頼のあった医療機関の都道府県分布

都道府県	依頼件数	陽性件数	医療機関数	都道府県	依頼件数	陽性件数	医療機関数
愛知	8	1	7	島根	0	0	0
青森	0	0	0	千葉	3	0	2
秋田	0	0	0	東京	17	4	14
石川	0	0	0	徳島	2	2	2
茨城	3	1	2	栃木	1	0	1
岩手	0	0	0	鳥取	0	0	0
愛媛	3	0	2	富山	0	0	0
大分	9	4	6	長崎	4	0	2
大阪	31	7	17	長野	5	2	5
岡山	24	6	6	奈良	7	3	2
沖縄	1	0	1	新潟	3	1	2
海外	0	0	0	兵庫	22	8	13
香川	0	0	0	広島	9	2	4
鹿児島	19	8	14	福井	0	0	0
神奈川	11	2	6	福岡	32	5	18
岐阜	6	2	3	福島	3	0	3
京都	3	0	3	北海道	6	2	6
熊本	13	5	5	三重	0	0	0
群馬	6	5	4	宮城	1	0	1
高知	2	1	1	宮崎	40	6	13
埼玉	4	1	2	山形	1	0	1
佐賀	0	0	0	山口	2	0	2
滋賀	1	0	1	山梨	1	0	1
静岡	6	2	4	和歌山	1	1	1

(2) 寄生虫疾患発生動向

疾患別の内訳では、これまでの傾向通り回虫類の幼虫による幼虫移行症と肺吸虫症が多数を占め、両疾患ともに前年と同程度の発生であった(表2)。回虫類の幼虫による幼虫移行症は、ピーク時は年間100症例前後であったので、当時と比べると約1/3にまで減少したことになるが、このまま減少傾向が続くか否かはまだ判断できない。

表2 宮崎大学医学部における寄生虫症検査結果

寄生虫症	2009	2010	2011	2012	2013
トキソカラ症	49	48	48	34	35
ブタ回虫症					
アニサキス症	2	2	3	4	1
イヌ糸状虫症	0	0	0	0	1
顎口虫症	9	3	4	9	3
鉤虫・イヌ鉤虫症	1	1	1	0	0
マンソン孤虫症	5	2	4	8	3
有鉤囊虫・糸虫症	1	0	0	0	0
肺吸虫症	38	45	35	30	29
肝蛭症	1	3	2	2	1
住血吸虫症	4	3	6	6	2
肝吸虫症	0	1	3	1	4
糞線虫症	0	2	0	2	2
回虫症	0	0	0	0	2
日本海裂頭条虫症	0	4	2	0	1

(3) トキソカラ症・ブタ回虫症の症例分析

2013年にトキソカラ症/ブタ回虫症と診断された症例37例の平均年齢は53.3歳(26~79歳)で、男性30例に対し女性7例と、これまでの傾向通り中高年男性に多い疾患といえた。

生食歴に記載があったのは30例で、このうち11例は生肉ないし生レバーの摂取歴が記載されていた。しかも2013年で特徴的だったのは、これら生肉の摂取が海外(韓国)で、しかも家族内感染が目立ったことである。以下に具体的な症例を述べる。

28歳女性(兵庫県)

嘔吐と下痢が続き、ノロウイルス感染と診断された。腹部CTを実施したところ、肺にいくつもの異常陰影があった。韓国に行く事が多く、生肉を好み、牛、トリレバーなどをよく摂取していた。抗トキソカラ抗体陽性。

37歳女性(岡山県)

平成25年5月の健診で胸部異常陰影を指摘された。5月と6月のCT検査では、陰影の消失と新た

な陰影の出現がみられた。軽い動作でも息切れするようになっていた。最近家族で韓国に行き、生レバーと生せんまいを食べた。配偶者(40才)に自覚症状はなかったが、抗体検査で抗トキソカラ抗体陽性であった。

40歳才男性(神奈川県)

平成25年5月中旬に、末梢血好酸球が増加していると指摘された。好酸球は69%と著明であり肝臓には多発性腫瘤がみられた。1月に韓国で牛のレバ刺しを食べていた。配偶者(41歳)も末梢好酸球増多あり。夫婦共に抗トキソカラ抗体陽性。

33才男性(兵庫県)

平成25年5月15日の職場健康診断で胸部の異常陰影を指摘された。生肉をよく食べる。父親と思われる男性(67歳)も末梢血白血球数が増加。叔父と思われる男性(65歳、月に一度は韓国に行き牛生肉、肝臓、内臓を食べる)にも胸部異常陰影と末梢血白血球数の増加があった。

2. 回虫類による幼虫移行症治療におけるアルベンダゾールの有効性と安全性の検討

2004年から2012年までにフォローアップの抗体検査依頼があったトキソカラ症・ブタ回虫症254例について、フォローアップ時の検査申込み書に記載された情報を基に、使用薬剤、転帰、副作用について検討した。

使用薬剤では、アルベンダゾール単独が217例、アルベンダゾールとイベルメクチンなど他の抗線虫薬の併用が15例、アルベンダゾール以外の抗線虫薬が17例、投薬なしが5例であった。

臨床症状や画像所見、フォローアップの抗体濃度などから回復(治癒ないし軽快)と非回復に分けてみたところ、アルベンダゾール単独例での回復率は79.7%、アルベンダゾールと他の抗線虫薬が53.3%、アルベンダゾール以外の抗線虫薬が58.9%であった。アルベンダゾール単独と他の抗線虫薬による治療の回復率に統計学的な有意差はなかったが、アルベンダゾールによる治療が優れている傾向はみとめられた。

アルベンダゾール単独による治療で副作用の記載があったのは217例中44症例(20.3%)であった。そのうち39例は肝機能障害であり、残りは、貧血、嘔気・嘔吐、胃痛等であった。

アルベンダゾール単独による治療例で、回復した群と回復しなかった群に病型の違いがあるか、あるいは年齢性別分布に差がないか検討したが、いずれも有意の差は認められなかった(表3、図1)。

表3 アルベンダゾール有効例と無効例の病型

症候	回復群	非回復群
好酸球増多のみ	31	9
好酸球増多と胸部・肝の異常陰影	81	20
好酸球増多と他症候	12	3
脊髄炎	25	4
眼症状	23	8
その他	1	0

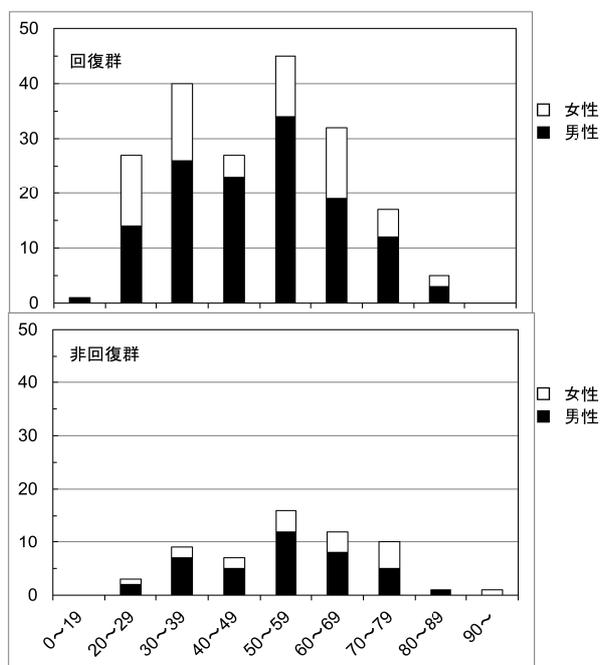


図1 アルベンダゾール単独治療後の回復群と非回復群の年齢性別分布

D. 考察

当教室で実施している寄生虫症血清検査で陽性と判定される症例の大多数は、食品媒介性の人獣共通寄生虫症である。具体的には肺吸虫症とトキソカラ（イヌ回虫またはネコ回虫）やブタ回虫による内臓幼虫移行症が多数を占める。とくに動物由来の回虫類幼虫による幼虫移行症は、原因食品の多くが牛やトリなど一般的な食品であると考えられることから、発生動向、感染経路等について詳細な検討が必要である。

幼虫移行症は2012年が34例、2013年が37例で、発生数自体には大きな違いはない。しかしながら、2013年の大きな特徴として、韓国で牛生肉ないし生レバーを摂取して発症したと考えられる症例が複数あったことが挙げられる。

渡航歴に韓国があり生肉摂取をしてトキソカラ症に感染したと考えられる症例はこれまでも見られたが、2013年のように家族発症という例は少なかった。これは、2012年に牛のレバーを生食用として販売・提供することが禁止されたため、禁止されていない海外での摂取に及んだことが原因ではないかと考えられる。そもそも牛の生レバー提供禁止は、死亡のおそれがある腸管出血性大腸菌感染症を防ぐためのものであり、一般市民に対する十分な注意喚起が必要と考えられた。

抗寄生虫薬の国内未承認薬あるいは適応外薬のわが国における有効性と安全性の検討は、当研究班の重要な研究課題である。動物由来の回虫類感染症に対しては、研究班はアルベンダゾール（エスカゾール 200 mg錠:GSK）を10～15 mg/kg/日（分2～3）を4～8週間という処方推奨している（寄生虫症薬物治療の手引き 2014、改訂第8.0版、2014年3月発刊）。当該薬剤の幼虫移行症に対する使用は保険適用外なので、有効性と安全性に関するエビデンスを蓄積する必要がある。

当研究室に抗体のフォローアップ依頼があった254症例について検討したところ、アルベンダゾール使用例は他剤使用例よりも治癒率が高い傾向にあり（ $p=0.06$ ）、アルベンダゾールの単独使用例217例では、治癒173例、効果なし44例（治癒率79.7%）、副作用出現率は20.3%であった。副作用はほとんどが軽度の肝機能障害であったことから、アルベンダゾールは十分に有効かつ安全な薬剤で、動物由来の回虫類感染症に対する現時点で最も信頼できる薬剤であると考えられた。

E. 結論

トキソカラ症に海外でしたと考えられる症例が多発したことにより、海外での生肉・生レバー摂取に対して、一般市民へ危険性の周知が必要と考えられた。アルベンダゾールは動物由来の回虫類幼虫移行症に対して有効かつ安全な薬剤であると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) El-Malky MA, Maruyama H, Al-Harhi SA, El-Beshbishi SN, Ohta N: The role of B-cells in immunity against adult *Strongyloides venezuelensis*. Parasit Vectors. 6: 148. doi: 10.1186/1756-3305-6-148, 2013.
- 2) Nagayasu E, Ishikawa SA, Taketani S, Chakraborty G, Yoshida A, Inagaki Y, Maruyama H: Identification of a Bacteria-Like Ferrochelatase in *Strongyloides venezuelensis*, an Animal Parasitic Nematode. PLOS ONE 8 (3): e58458, 2013
- 2) Kikuchi T, Koga M, Shimizu S, Miura T, Maruyama H, Kimura M: Efficacy and safety of paromomycin for treating amebiasis in Japan. Parasitol Int. 62 (6): 497-501, 2013
- 3) 丸山治彦、大前比呂思：吸虫症 別冊日本臨床神経症候群（第2版）907-911. 2013年12月30日
- 4) 本部エミ、吉田彩子、長安英治、黒木美香、丸山治彦：動物由来回虫症に対するアルベンダゾールの有効性の検討 Clinical Parasitology 24, 24, 91-93, 2013

2. 学会発表

- 1) 本部エミ、吉田彩子、長安英治、黒木美香、丸山治彦：動物由来回虫症に対するアルベンダゾールの有効性の検討 第 24 回日本臨床寄生虫学会学術大会、2013 年 6 月 15 日、奈良市
- 2) 長安英治、吉田彩子、本部エミ、黒木美香、丸山治彦：寄生虫症血清診断から見た肺吸虫症の最近の動向 第 24 回日本臨床寄生虫学会学術大会、2013 年 6 月 15 日、奈良市
- 3) Yoshida A, Poulsen CS, Skallerup P, Maruyama H, Thamsborg SM, Nejsum P : Migratory pattern of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* in pigs. 24th International Conference of the WAAVP, 25-29 August, 2013, Perth
- 4) Yoshida A, Skallerup P, Poulsen CS, Nejsum P, Maruyama H, Thamsborg SM : Migratory pattern of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* in pigs as a model for human infection. Forum Cheju 16, 30-31 August, 2013, Seoul
- 5) Poulsen CS, Yoshida A, Skallerup P, Maruyama H,

Thamsborg SM, Nejsum P : Migratory pattern of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* in pigs. 8th European Congress on Tropical Medicine and International Health, 10-13 September, 2013, Copenhagen

- 6) 茂野佐弓、相原茉里、早田弥生、吉田彩子、本川和幸、三澤尚明、堀井洋一郎、野中成晃、丸山治彦：肉用牛における動物由来回虫に対する抗体保有率の検討 第 66 回日本寄生虫学会南支部大会・第 63 回日本衛生動物学会南支部大会 合同大会、2013 年 11 月 2 3 日、由布市
- 7) 本部エミ、吉田彩子、長安英治、黒木美香、堀井洋一郎、丸山治彦：動物由来回虫症に対するアルベンダゾールの有効性と安全性 第 66 回日本寄生虫学会南支部大会・第 63 回日本衛生動物学会南支部大会 合同大会、2013 年 11 月 2 3 日、由布市
- 8) 吉田彩子、早田弥生、茂野佐弓、相原茉里、本川和幸、堀井洋一郎、野中成晃、丸山治彦：肉用牛及び肉鶏における動物由来回虫に対する抗体保有率の検討 第 83 回日本寄生虫学会大会、2014 年 3 月 27 - 28 日、松山市
- 9) Hombu A, Yoshida A, Nagayasu E, Kuroki M, Maruyama H : Assessment on Effectiveness and Safety of Albendazole for Ascarid Infections. 第 83 回日本寄生虫学会大会、2014 年 3 月 27 - 28 日、松山市
- 10) 丸山治彦：食肉由来の人獣共通寄生虫疾患牛臨床寄生虫研究会 2013 年 10 月 5 日、宮崎市
- 11) 丸山治彦：寄生虫疾患の臨床検査 第 3 回 一般検査研究班研修会・宮崎県臨床検査技師会 2014 年 1 月 26 日、宮崎市
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 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

レセプトデータに基づく寄生虫症診療実態の把握と 寄生蠕虫症診断キットの検証

分担研究者 大前比呂思 国立感染症研究所・寄生動物部 室長
研究協力者 山崎 浩 国立感染症研究所・寄生動物部 室長
研究協力者 杉山 広 国立感染症研究所・寄生動物部 主任研究官

研究要旨：従来国内で認可されてきた抗原虫薬、抗蠕虫薬の保険適用は、国際標準に必ずしも合致していなかったが、最近、幾つか抗原虫薬で保険適用が認められ、利用状況の変化が注視される。しかし、現在、日本国内で届け出義務のある寄生虫症は、感染症法の、類感染症、食中毒事例などに限られ、届けられた寄生虫症例のみで、国内の寄生虫症診療実態を把握するのは難しい。そこで、2010 年度から行っている約 100 万人のレセプトデータの解析による蠕虫症の実態調査に、今回は原虫症の実態調査も加えて分析した。2010 年から 12 年までの分析で、報告された蠕虫症数と抗蠕虫薬の処方数との間には、大きな違いはみられなかった。一方、原虫症においては、報告された原虫症数と抗原虫薬の処方数との間には、大きな違いがみられた。メトロニダゾールを例にとると、対象疾患では、トリコモナス症以外に赤痢アメーバ症が多かったが、処方数は、トリコモナス症と赤痢アメーバ症などの消化管寄生原虫症の合計よりも多くなった。また、ST 合剤の処方数も、ニューモシチス肺炎と組織寄生性原虫症の合計数よりも多かった。メトロニダゾールも ST 合剤も複数の細菌感染に保険適用があるので、寄生虫症以外への処方が多く、2013 年以降予測される寄生虫症での保険適用拡大による診療状況の変化が、処方数の比較では把握できない可能性もある。また、確定病名の記載数からは、トキソプラズマ症が多く、感染症法で、類に分類される寄生虫症で全国的に年間 1000 例程度と最も報告数の多い赤痢アメーバ症の、1.5 倍から 3 倍程度となった。また、蠕虫症については、食中毒の届け出データからみると、食中毒の原因寄生蠕虫として、アニサキスは最近急増する傾向を示したが、レセプトデータからは、その傾向は確認されなかった。一方、レセプトデータから推定される全国でのアニサキス症の発生数は、食中毒での届け出数の 30～50 倍とも推計された。さらに、類に指定される寄生蠕虫症、エキノкокクス症では、国内発症がみられる多包虫症との鑑別が問題となる単包虫症について、市販のリコンビナント抗原を検出するイムノクロマト法の有用性を検討した。ウエスタン・プロット法で検出される肝嚢胞の初期病変で検証したところ、陰性を示し初期病変を検出できない可能性が示された。

A. 研究目的

従来、日本国内での使用が認可されてきた抗原虫薬、抗蠕虫薬の保険適用は、国際標準に必ずしも合致したものではなかった。最近、公知申請を積極的に進めることで、メトロニダゾールやパロマイシンによる赤痢アメーバ症治療やアトバコン・プログアニル合剤によるマラリア治療など、原虫症を中心に、国際的に広く認知された治療薬による、日本国内での寄生虫症の保険診療の幅が

広がっている。これらの薬剤の保険適用拡大により、国内の寄生虫症診療状況がどのように変化するか、注意してモニタリングしていく必要があるが、現在、日本国内で届け出義務のある、感染症法の、類感染症、食中毒事例などで報告された寄生虫症のみで、国内での寄生虫症診療の実態を把握することは難しい。そこで、2010年度から行っていた約100万人のレセプトデータの解析による蠕虫症の実態調査に加え、原虫症の実態調査も行うこととした。まず、2010年から12年までの

記載・報告された確定病名と処方数などから、原虫症の診断・治療について基礎的データを得ることを目指した。

また、蠕虫症については、現在の食中毒届け出数と実際の発生数との比較を、レセプトデータからの推定で行うこととした。さらに、蠕虫症では、

類感染症として唯一感染症法での届け出が義務付けられているエキノコックス症で、国内発症がみられる多包虫症との鑑別が問題となる単包虫症について、診断キットの有用性を検討することとした。

B. 研究方法

株式会社日本医療データセンターに集積された100万人のレセプトデータ（企業の健保組合，2010 - 2012年）を対象とし、寄生原虫症関連の確定病名がついている例を拾い出して検討した。さらに、同じレセプトデータを用い、寄生原虫症（含ニューモシスチス肺炎）に対し保険適用が記載されているスルファメトキサゾール・トリメトプリム、メトロニダゾール、チニダゾール、ペンタミジン、メフロキン、パロモマイシンなどについて、実際の処方数を治療効果が広く認められている寄生虫症の診断数と比較して解析した。

日本国内における寄生原虫症に対する主たる保険適用では、スルファメトキサゾール・トリメトプリムとペンタミジンがニューモシスチス肺炎、メトロニダゾールとチニダゾールがトリコモナス症、メフロキンとキニーネがマラリアに認められていた。2012年までの最近の公知申請の結果、メトロニダゾールが赤痢アメーバ症とジアルジア症に、パロモマイシンが赤痢アメーバ症（腸管）に使用可能となった。一方、スルファメトキサゾール・トリメトプリムやメトロニダゾールには、他に様々な細菌感染症にも保険適用がある。また、アセチルスピラマイシンの保険適用は、ブドウ球菌感染や梅毒トレポネーマなどの細菌感染に限られ、トキソプラズマ症に対する保険適用はない。

また、蠕虫症については、食中毒に届け出区分が変わり精緻になったのをうけ、アニサキス症をモデルにレセプトデータと食中毒の届け出を2010年から12年までで比較した。さらに、蠕虫症では、唯一感染症法での届け出が義務付けられているエ

キノコックス症で、国内発症がみられる多包虫症との鑑別が問題となる単包虫症について、リコンビナント抗原を用い最近国内で販売されたイムノクロマト法によるキットの検証を中心に行った。モンゴルの単包虫症浸淫地で、超音波検査の結果、肝嚢胞が認められウェスタン・ブロット法で感染が確認された例で、rAgBによるイムノクロマト法の検出力を確認した。このキットの検証では、血液の採取が必要になるので、被検者には、書面によりインフォームド・コンセントを受けた。

C. 研究結果

日本国内での寄生原虫症診療では、膾トリコモナス症が多く、使用薬剤でもメトロニダゾールが多くなった（表1）。しかしながら、メトロニダゾールの処方数は、トリコモナス症、赤痢アメーバ症、ジアルジア症、消化管原虫症の患者総数よりも、はるかに多かった。また、最近では赤痢アメーバ症が増加する傾向が見られる。

表1 消化管・泌尿生殖器寄生原虫症の記載と処方数（100万人のレセプトデータ）

病名	2010年	2011年	2012年
赤痢アメーバ症	31	43	62
トリコモナス症	1,346	1,302	940
ジアルジア症	0	0	1
クリプトスポリジウム	0	1	0
消化管原虫症	7	8	5
処方薬			
メトロニダゾール	2,112	2,999	2,322
チニダゾール	150	149	120
パロモマイシン	-	-	-
ST合剤	1,083	1,108	1,286

表2 組織寄生原虫症(含 ニューモシスチス肺炎)の記載と処方数(100万人のレセプトデータ)

病名	2010年	2011年	2012年
マラリア	4	0	2
トキソプラズマ網膜炎	9	7	6
トキソプラズマ髄膜炎	0	1	0
トキソプラズマ(他)	93	92	82
ニューモシスチス肺炎	425	475	702
処方案			
メフロキン	2	0	1
キニーネ	1	0	1
ペンタミジン	37	37	46
ST合剤	1,083	1,108	1,286

また、組織寄生の寄生原虫では、トキソプラズマ症の報告が多く、100万人あたり70~90人と多くなった。赤痢アメーバ症は 類感染症に属し、全国で年間1000例近くの報告数があるが、100万人を対象としたレセプトデータの確定病名数では、トキソプラズマ症の方が、赤痢アメーバ症より多くなった(表2)。

全国の食中毒届出例でみると、アニサキス症は、最近急増傾向を示している(表3)。しかし、レセプトデータを基にすると、そのような増加傾向は認められなかった。一方、全国でのアニサキスによる食中毒年間報告数は、ほぼ100万人でのレセプトデータでの、確定病名数とほぼ同じ程度を示し、食中毒として届けられるアニサキス症は、実際の発生数と大きく異なると判断された。

表3 最近のアニサキス症発生動向 レセプトデータ(100万人)と食中毒統計(全国)の比較

	レセプト(100万人)	食中毒統計(全国)
2010年	64	29
2011年	53	35
2012年	48	71

また、超音波検査の結果、肝嚢胞が認められウエスタン・プロット法で単包虫症の初期病変と診断された5例で、rAgBによるイムノクロマト法の検出力を確認した。このキットでは、5例とも検出されなかった。

D. 考察

2010年度から行っている約100万人のレセプトデータの解析による蠕虫症の実態調査日本国内では、確定病名のついた寄生蠕虫症例の数に比して、抗蠕虫薬の処方数は、総じて少ない傾向を示したが、その差はわずかであった。しかし、今回原虫症について同様な調査を行ったところ、確定病名のついた寄生原虫症数と抗原虫薬の処方数との間には、大きな違いがみられた。メトロニダゾールを例にとると、対象疾患は、トリコモナス症以外に赤痢アメーバ症などの消化管寄生原虫症だが、処方数は、トリコモナス症と消化管寄生原虫症の合計よりも多くなった。ST合剤の処方数についても、ニューモシスチス肺炎と組織寄生性原虫症の合計数よりも多かった。メトロニダゾールもST合剤も複数の細菌感染に保険適用があり、寄生虫症以外への処方が多いため、このような傾向を示したと思われる。

また、確定病名の記載数からは、トキソプラズマ症が多く、 、 類に分類される寄生虫症では全国的に年間1,000例程度と最も報告数の多い赤痢アメーバ症よりも、はるかに多くなった。トキソプラズマ症については、特に診断に苦慮し、曖昧に診断名を付与する例が多いことも反映していると思われる。

蠕虫症については、食中毒の届け出データからみると、食中毒の原因寄生蠕虫として、アニサキスは最近急増する傾向を示すが、レセプトデータでは、その傾向は確認されない。一方、レセプトデータから推定される全国でのアニサキス症の発生数は、食中毒での届け出数よりはるかに多いと推測された。さらに、 類に指定されるエキノコックス症では、リコンビナント抗原を検出するイムノクロマト法の有用性を、単包虫症で検討したが、初期病変は検出できないことがわかった。ウエスタン・プロット法は、肝嚢胞の初期病変も検出できるが、検査にかかる費用が高く、多人数を一度に行う診断検査法には適していない。今後も、海外での情報収集にも努めながら、国内での使用状況を確認して、寄生虫症においても、国際的動向と国内での実態にあった薬剤の保険適用の拡大を図りつつ、目的に応じた適正な診断キットの選択も進めるべきと考えられた。

E. 結論

レセプトデータの解析を中心に、日本国内における寄生原虫症の診療実態を調査・解析した。レセプトデータでの確定病名数では、トリコモナス症が最も多いが、次はトキソプラズマ症、赤痢アメーバ症と続いた。また、レセプトデータから推定される全国でのアニサキス症の発生数は、食中毒での届け出数よりはるかに多いと推測された。さらに、リコンビナント抗原を検出するイムノクロマト法による単包虫症診断キットでは、単包虫症の初期病変は検出できない可能性も示された。

G. 研究発表

1. 誌上発表

- 1) Kato-Hayashi N, Yasuda M, Yuasa J, Isaka S, Haruki K, Ohmae H, Osada Y, Kanazawa T, Chigusa Y. Use of cell-free circulating schistosome DNA in serum, urine, semen, and saliva to monitor a case of refractory imported schistosomiasis haematobia. *J Clin Microbiol* 51;3031-35, 2013
- 2) 大前比呂思. Today's Therapy 2014, 今日の治療指針2014版 (vol.55). 私はこう治療している。医学書院 山口徹、北原光夫、福井次矢編、その他の吸虫症（肺吸虫症，肝吸虫症，横川吸虫症，肝蛭症） pp:270-271, 2014年1月 東京
- 3) 大前比呂思 *Plasmodium* 属 マラリアの検査ウイルス，細菌，真菌，寄生虫便覧 pp324 - 327, 検査技術協会 2014年2月 東京
- 4) 大前比呂思 鉤虫症 寄生虫症薬物治療の手引き 改訂第 8.0 版 pp53 - 54 厚生労働科学研究費補助金・医療技術実用化総合研究事業「わが国における熱帯病・寄生虫症の最適な診断治療」 2014年3月
- 5) 杉山広，大前比呂思，山崎浩，木村真也．アニサキスによる食中毒： 届出に関わる法改正とレセプトデータに基づく患者数の推計臨床寄生虫学会 24 pp44 - 46, 2013年

2. 学会・研究会発表

- 1) 発熱で受診した生殖母体を有する輸入熱帯熱マラリアの1例 太田昭生，高木積，大前比呂思，中野由美子，藤井充 第24回日本臨床寄生虫学会

2013年6月 奈良

- 2) 旅行医学における住血吸虫症 大前比呂思，桐木雅史，林尚子，千種雄一 第7回日本渡航医学会 2013年10月 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得	なし
実用新案登録	なし
その他	なし

熱帯寄生虫病治療薬の薬効解析

分担研究者 太田伸生
東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野 教授

研究要旨：熱帯寄生虫病に対する治療薬開発を目指すために、新規薬剤候補物質の薬効発現機序の解析を進めた。新規合成化合物、N-89/N-251 は抗マラリア薬として開発が進んだものであるが、住血吸虫に対する効果も併せて持っており、今年度は住血吸虫に対する効果発現機序を検討した。In vitro で N-89/N-251 を添加すると、マンソン住血吸虫幼虫は 72 時間以内に死滅するが、それはマンソン住血吸虫幼虫の酸性オルガネラ、恐らくはリソソームに集積して破壊するという新規の薬効機序の所見が得られた。N-89/N-251 がマラリア原虫を障害する場合は、原虫の小胞体のカルシウム結合タンパク質に作用する事がわかっているが、住血吸虫に対する効果はそれとは異なる機序であることが考えられた。多くの抗寄生虫薬について、その薬効機序について十分な解析が進んでいない中、作用機序を物質レベルで明らかにする事で、今後の薬剤開発の重要な基礎情報となる事が期待される。

A. 研究目的

熱帯寄生虫病はわが国の国際化とともに、国民の健康問題として無視する事が出来ない状況になっている。一方で、抗寄生虫薬は開発が困難で、さらに常に薬剤耐性の出現と競合するために、疾患によっては薬剤選択に問題が生じている。このような背景下に、新規の抗寄生虫薬開発の必要性が叫ばれてきているが、合成可能な構造を持つ物質が標的分子についても明らかにされるならば、様々な分子修飾により薬剤開発促進の可能性が広がる事になる。

本研究では、現在開発中の抗寄生虫薬の薬効機序を物質レベルで解析し、抗寄生虫作用の解明を行い、今後の抗寄生虫薬開発のための情報提供を進めることを目的とした。わが国の医学生物学領域のイノベーションへの貢献も企図した。

B. 研究方法

マンソン住血吸虫

東京医科歯科大学で維持しているプエルトリコ株を用いた。今年度の研究ではマンソン住血吸虫の幼虫、シストソミユラを用いたが、これは中間宿

主貝より遊出させた有尾幼虫の尾部を機械的に離断させて作製した。

N-89/N-251

検討する抗寄生虫薬として、抗マラリア作用の他に抗住血吸虫作用が確認されている合成環状過酸化化合物 N-89 および N-251 を用いた (図 1)。

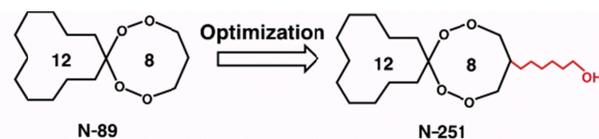


図 1 N-89 と N-251 の構造式

抗シストソミユラ作用としては in vitro で N-89/N-251 を作用させた。この化合物は水に不溶性であるため、DMSO にて溶解して用いた。対照としては DMSO 溶液を設定した。薬効の比較としてアルテミシニンを用いた。

ローダミン標識 N-251 のシストソミユラ体内動態の追跡

N-89 は構造が簡単に過ぎて標識が出来ないことから、N-251 をローダミン標識して in vitro でのシストソミユラ体内の動態を 2 時間から 16 時間の間で追跡した。

シストソミユラ体内の N-251 局在部位の観察

N-251 のシストソミユラ体内での局在部位を調べるために、蛍光標識した細胞内小器官検出試薬を共に添加し、蛍光標識の観察をした。検討したのはゴルジ装置、小胞体、ミトコンドリア、リソソームである。

N-251 作用時のシストソミユラの形態学的観察

N-251 を 50 μ M で作用させると 48 時間以内に致死効果がある事がわかっていたので、その濃度で作用させた 16 時間後の形態変化を電子顕微鏡で観察した。

「（倫理面への配慮）」

本研究はヒト及びマウス等実験動物を使用していないが、 Manson 住血吸虫の実験室内維持にはマウスが必要であり、東京医科歯科大学動物実験委員会承認を得て実施した（承認番号 0150016A）。また、本学医学部利益相反委員会にて、利益相反の該当しない旨、承認されて実施した。

C. 研究結果

N-89/N251 の抗シストソミユラ効果

N-89/N251 は *in vitro* でシストソミユラに対して $EC_{50} < 20\mu\text{M}$ と強い障害活性を示し、検討した条件下ではアルテミシニンの EC_{50} 値 174.9 μM よりも強い活性を示した（図 2）。

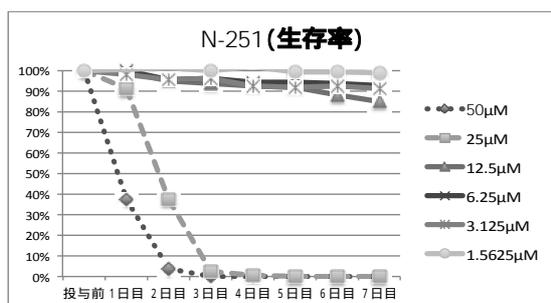


図 2 Manson 住血吸虫幼虫に対する N-251 の *in vitro* における殺滅効果

ローダミン標識 N-251 の住血吸虫シストソミユラ体内動態

N-251 を非致死量で作用させ、その後の動態をローダミン蛍光の追跡にて観察すると、作用させて 4 時間後以降では体内分布は均一ではなく、特定の部位に局在する傾向を示した。

酸性オルガネラへの集積と傷害作用

シストソミユラの構成細胞は合胞体であるため、ローダミンシグナルの分布状況は合胞体内の細胞小器官に集積している可能性を考え、小器官検出マーカーとの共局在を調べた。その結果、酸性小器官を検出する Lysotracker だけが共局在シグナルを呈し、N-251 はリソソームまたは酸性の細胞内小器官に集積する事が示唆された。

また、致死濃度で作用させた場合、16 時間後には Lysotracker のシグナルが消失した事から、これら酸性の細胞内小器官が破壊されている事が示唆された。

N-251 作用シストソミユラの電子顕微鏡による観察

N-251 の作用を形態的に観察するために電子顕微鏡による観察を行った。その結果、致死濃度での N-251 作用後のシストソミユラの体内は空胞化していたが外皮構造の破壊は観察されなかった。形態的にリソソームと考えられる構造物の破壊が顕著であった（図 3）。

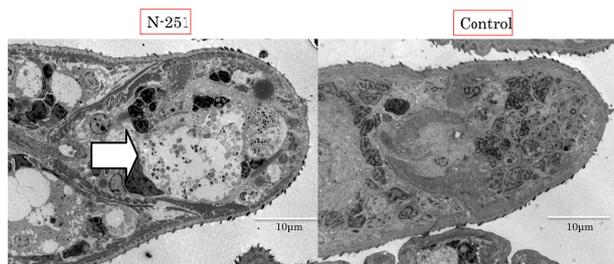


図 3 N-251 処理後のシストソミユラ内部の空胞化を伴う傷害所見（矢印部分）

D. 考察

抗マalaria薬として開発が進められている N-89/N251 は住血吸虫にも強い傷害作用を示す事が確認された。*In vitro* での検討ではアルテミシニンよりも強い作用を示したが、アルテミシニン系薬剤は薬効に鉄イオンの存在が影響するとされているため、検討した *in vitro* の条件下では N-89/N251 よりも作用が弱かったのかも知れない。

今年度の研究で明らかになった事は、N251 がシストソミユラの体内では酸性小器官に集積し、シストソミユラへの致死作用とほぼ同時にそれらの細胞内小器官（恐らくはリソソーム）の破壊が進む事である。N-89/N-251 はアルテミシニン系

薬剤と同様の抗マラリア効果を推定して開発が進められている薬剤であるが、マラリア原虫での作用標的は最近になって小胞体のカルシウム結合タンパク質である事が報告されている。今回の住血吸虫での検討では、標的分子は小胞体ではなくリソソームと思われる細胞内小器官であった。従って、N-89/N-251 は抗マラリア作用と抗住血吸虫作用とを持つものの、それぞれの場合での作用機序が異なるものと思われた。

リソソームを標的とする抗寄生虫薬については明らかなものはなく、この事実が確認されるならば、新しい抗寄生虫作用としてユニークな現象であると考えた。N-251 の作用後の時間経過と現れる形態変化の比較から、N-251 がリソソームを傷害してシストソミユラを殺滅する可能性が考えられるが、リソソームの破壊と虫体の殺滅との因果関係のエビデンスは得られていないので、今後はこの点を証明し、今後の新しい薬剤開発戦略としていくことが期待される。

先行研究からは、N-89 を作用させると雌成虫の産卵能力を強く阻害する事が観察されているので、その作用もリソソームの破壊と関係があるのか、今後の検討課題である。

E. 結論

新規の抗マラリア薬候補である N-89/N251 は抗住血吸虫作用も示すが、その薬効標的がリソソームなど酸性オルガネラである可能性が観察された。これは新規の抗住血吸虫作用機序と考えられ、また N-89/N-251 が持つ抗マラリア作用の機序とも異なるものであった。これらの観察結果は、今後の抗住血吸虫薬開発の重要な情報をなるものである。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

(1) Kumagai T, Ohta N. Efficacy analysis of newly synthesized compounds with endoperoxide activity, N-89/N-251, on larval stage *Schistosoma mansoni*. 16th International Conference on Emerging

Infectious Diseases in the Pacific Rim. US-Japan Cooperative Medical Science Program, February 9-11, 2014, Dhaka, Bangladesh.

(2) Seki T, Anyan WK, Kumagai T, Karasuyama H, Ohta N. Basophils seem to be possible key players in the regulation system of host responses during schistosome infection. Forum Cheju-16, August 30-31, 2013, Seoul, Korea.

(3) 山邊将史、熊谷 貴、下河原理江子、関 丈典、斤恵淑、太田伸生 環状過酸化化合物 N-89 及び N-251 の Manson 住血吸虫シストソミユラに対する *in vitro* の薬効解析 第 83 回日本寄生虫学会大会、2014 年 3 月 27-28 日、松山市

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

