

が明らかとなった。

(2) 地理的分布

2001年から2014年までの動物由来回虫症 883症例を患者の居住地（都道府県レベル）によって分けると、九州沖縄が412症例と約半数を占め、次いで近畿の269、関東の77と続いた（表4）。

表4 都道府県ごとの動物由来回虫症患者の陽性率

	検査数	陽性数	陽性率
北海道	70	9	0.129
青森	5	2	0.400
岩手	8	0	0.000
宮城	32	3	0.094
秋田	10	1	0.100
山形	13	1	0.077
福島	25	1	0.040
東北・北海道	163	17	0.104
茨城	45	4	0.089
栃木	25	2	0.080
群馬	39	3	0.077
埼玉	64	5	0.078
千葉	58	6	0.103
東京	269	36	0.134
神奈川	115	21	0.183
関東	615	77	0.125
新潟	23	3	0.130
富山	16	2	0.125
石川	19	5	0.263
福井	10	0	0.000
山梨	10	1	0.100
長野	61	8	0.131
岐阜	52	9	0.173
静岡	55	5	0.091
愛知	97	10	0.103
中部	343	43	0.125
三重	42	13	0.310
滋賀	22	4	0.182
京都	86	23	0.267
大阪	489	148	0.303
兵庫	212	47	0.222
奈良	93	24	0.258
和歌山	33	10	0.303
近畿	977	269	0.275
鳥取	17	2	0.118
島根	32	6	0.188
岡山	91	16	0.176
広島	98	16	0.163
山口	35	7	0.200
徳島	29	9	0.310
香川	16	4	0.250
愛媛	32	4	0.125
高知	19	1	0.053
中国・四国	369	65	0.176
福岡	650	119	0.183
佐賀	57	7	0.123
長崎	143	15	0.105
熊本	195	21	0.108
大分	171	33	0.193
宮崎	979	112	0.114
鹿児島	504	99	0.196
沖縄	51	6	0.118
九州・沖縄	2750	412	0.150

九州沖縄の人口がわが国の全人口に占める割合が約11%であることを考慮すると（平成25年10

月1日現在）、一見、動物由来回虫症は九州に多いように思われる。しかしながら、九州地区の医療機関からはきわめて多数の検体が送付されているので、年齢性別分布と同様に、検査症例数を分母として総検体数に対する陽性率を算出した。

その結果、陽性率が高いのは九州ではなく、近畿地区であることが明らかとなった。特に、三重、大阪、和歌山の3府県は、陽性率が0.3を超える高い値を示した（表4）。近畿外では徳島が0.3を超えており、動物由来回虫症は、いわゆる関西で多く見出されていることが分かった。九州沖縄地区の陽性率は関東や中部と大きな違いはなく、九州沖縄で症例数が多いのは、検査検体数が圧倒的に多いのが理由であると考えられた。

(3) 病型

欧米の文献ではトキソカラ症は4つの病型に分けられるのが一般的である。すなわち、内臓型 visceral larva migrans (VLM)、眼型 ocular larva migrans (OLM)、神経型 neurotoxocariasis (NT)、潜伏型 covert toxocariasis (CT)である。ところがこの中の covert toxocariasis は、「他の型に分類されず非特異的症状のみ呈する」という概念として曖昧な病型なので、潜伏型を症状の有無で二分し、本研究では動物由来回虫症を以下の5つの病型に分けて解析した。

i) 内臓型 visceral type

呼吸器症状、胸部異常陰影、肝結節影など肺または肝に病変があるもの

ii) 眼型 ocular type

ぶどう膜炎や網膜の隆起性病変など眼内に病変があるもの

iii) 神経型 neural type

異常感覚や筋力低下、髄内腫瘍など神経症状を伴うもの

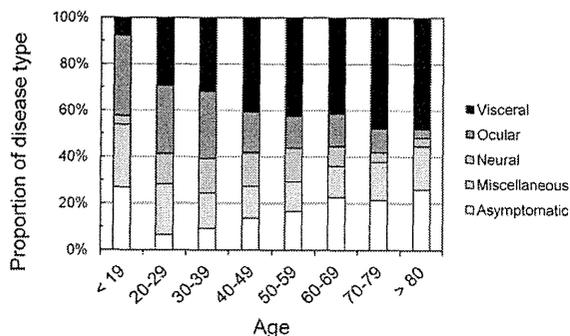
iv) 無症候型 asymptomatic type

自覚症状を欠き、他覚的にも臓器の病変が指摘できないもの（末梢血好酸球増多のみみられるものはここに含めた）

v) その他の病型 miscellaneous type

内臓型、眼型、神経型以外の臓器組織の症候・所見を呈するもの

図6 動物由来回虫感染症の年齢別病型割合



動物由来回虫症 883 症例を病型により分類すると、内臓型 340 例 (38.6%)、眼型 168 例 (19.0%)、神経型 100 例 (12.0%)、無症候型 141 例 (16.9%)、その他の病型 134 例 (16.1%) で、内臓型が全体の 4 割近くを占めた。

内臓型、眼型、または神経型に分類されないその他の病型 134 例をさらに詳しくみていくと、好酸球性心筋炎など心症状を呈するものが 33 例、好酸球性腸炎など消化管症状を訴えるものが 25 例、皮疹をみとめるものが 40 例あった。以上より、メジャーな内臓型、眼型、神経型に加えて、心臓型 cardiac type、消化管型 gastrointestinal type、皮膚型 cutaneous type を追加してもよいものと考えられた。

病型の分布は、性別あるいは発生地域では大きな違いがなかったが、患者の年齢別に分けると、若年層ほど眼型が多くなる傾向が認められ、反対に年齢が上がるほど内臓型の割合が増加していた (図 6)。また、神経型も 20 代以降では年齢とともに減少傾向が認められた。

動物由来回虫症患者における末梢好酸球数と総 IgE の値から各病型の免疫応答の強さを推定したところ、内臓型は好酸球増多も血清総 IgE もともに高く、反対に眼型は両者ともに低かった。神経型は、好酸球増多はないが IgE 値が中等度に上昇している症例が多くみられた。興味深いのは無症候型とその他の病型で、これらでは内臓型と同程度の好酸球増多と IgE 高値がみられた (図 7)。

仮に免疫応答が感染虫体数と正に相関するとすると、眼型では感染虫体数が少なく、内臓型、無症候型、その他の病型は、一定以上の感染量があったと推測することができる。

#### (4) 食歴

検査申込書の生食歴の記入欄に何らかの記載があった 455 例 (全体の 51.5%) のうち、生肉・生レバー摂取歴ありは 312 例であった。「生食なし」は 131 例で、食歴記載例のうち 2/3 程度は生肉・生レバー生食歴ありであった。摂取した生肉または生レバーの動物種は、牛、トリ、ブタ、ウマ、カモ、イノシシ、シカ、アナグマなど、畜産動物から野生動物まで多岐にわたっていた。

昨年度の本研究報告で、韓国渡航時に生肉を摂取してトキソカラに感染したと考えられる症例を複数報告したので、今回、2001 年まで遡って海外感染が疑われる症例を拾い上げた。しかしながら、2013 年より前には疑わしい症例は少数に止まった (表 5)。

表 5 海外で感染したと考えられる動物由来回虫症

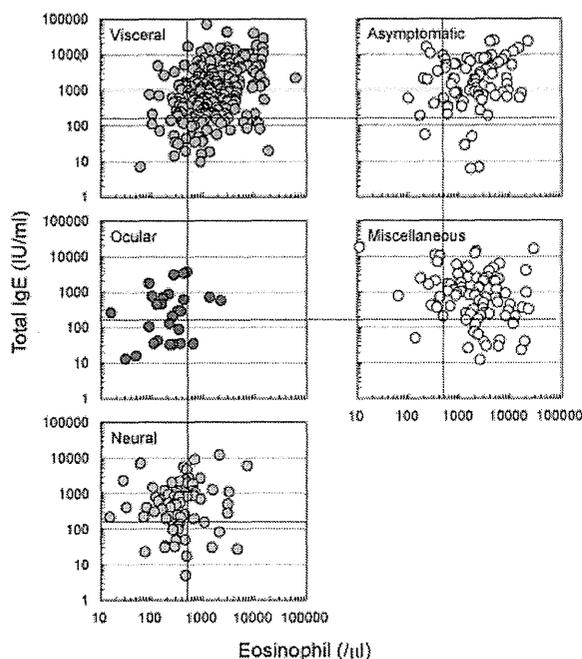
受付日	年齢	性別	居住地	渡航先	生食歴
12/2004	46	男	北九州	韓国	生肉
3/2008	62	男	香岐	韓国	生肉
12/2011	31	男	西宮	韓国	牛生レバー
12/2012	28	女	神戸	韓国	牛生肉、牛・トリ生レバー
6/2013	40	男	藤沢	韓国	牛生レバー
8/2013	41	女	藤沢	韓国	牛生レバー
6/2013	37	女	岡山	韓国	牛生レバー・生せんまい
8/2013	40	男	岡山	韓国	牛生レバー・生せんまい
7/2013	65	男	姫路	韓国	牛生肉・生レバー、馬刺
6/2014	60	男	豊岡	中国	牛生レバー
10/2014	30	男	東京都港区	中国	生肉

#### 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。

今回の肺吸虫症の分析では、過去の報告と一致して、日本人症例では九州ないし中部地方の山間部に住む中高年男性に多く患者がみられ、外国人症例では大都市圏の比較的若年層の女性に多かった。国籍は、中国、韓国、タイにほぼ限られていた。感染源と考えられたのは、日本人男性では

図7 動物由来回虫感染症の免疫応答



イノシシ肉が多く、日本人女性は、カニとイノシシがほぼ同数だった。一方、外国人の患者ではイノシシ肉の食歴はなく、ほぼ全員が淡水産のカニによって感染したと考えられた。

日本人症例の中には「イノシシは食べていないがシカ肉は食べた」とする例が目立った。现阶段ではシカ肉が感染源となり得ることを示すデータはないが、いわゆるジビエとして野生動物の食肉としての利用が進められているので、シカ肉の調査を進めるとともに、衛生管理ガイドライン等を遵守する一層の啓発活動が必要と考えられる。

イヌ回虫、ネコ回虫、ブタ回虫による動物由来回虫症は、従来から当研究室で診断される寄生虫疾患のうち、もっとも多い疾患であった。今回、過去の 883 症例のデータをまとめ、本疾患の病像を明らかにした。

本疾患は、欧米諸国では小児の疾患とされているが、わが国では間違いなく成人の疾患であり、中高年男性が患者の中心をなしていた。多くの症例で生肉・生レバーの摂取歴があったことから、感染経路は屋外に散布された虫卵ではなく、回虫類に感染した動物の肉やレバーと考えられた。日本では、本疾患は代表的な食品由来人獣共通感染症ということになる。

患者数は九州沖縄が半数近くを占めていたが、

検査検体数に占める陽性率は関西地区で高かった。このことから、九州での患者発生が多いのは発生数自体が多いというよりも、検査数が多いために発見されやすいのではないかと推察された。

関西での陽性率が高い原因は現時点では不明で、実際に多く発生している可能性と、診療に関わった医師の水準が高いという可能性の両方が考えられる。しかしながら、総務省統計局によると、全国の都道府県庁所在地および政令指定都市での1世帯当たりの生鮮肉年間支出金額（2012年から2014年平均）は、多い方から、京都市、和歌山市、大津市、奈良市、堺市、神戸市、大阪市と、近畿地方の都市が上位を占めている。このデータは生肉・生レバーの摂取を示してはいないが、関西では生肉も盛んである可能性を示唆していると思われる。

動物由来回虫症では従来より内臓型、眼型、神経型、潜伏型の4病型に分けられるが、本研究により潜伏型はさらに無症候型、心臓型、消化管型、皮膚型の4病型に分けられ得ることが分かった。末梢血好酸球数と血清総IgEから推測される免疫応答の強さは、内臓型・心臓型・消化管型・皮膚型・無症候型>神経型>眼型、であった。

病型と年齢の関係では、年齢が進むにつれ眼型・神経型が減少する傾向が認められた。しかしながらその原因は明らかではなく、何らかの動物モデルによる研究が必要と考えられる。

経口摂取された幼虫は、消化管から肝臓を通り肺へと向かう。したがって、内臓型では虫体周囲炎そのものが病像を作っていると考えてよいだろう。心臓、消化管壁、皮膚は通常の体内移行経路ではないので、おそらく、虫体によって引き起こされた全身性免疫応答の結果、組織障害が起きている可能性が高いと考えられる。神経型もIgE高値であることからアレルギー性の免疫応答が病像を形成している可能性が高いが、883症例中の1例で、脊髄生検によってトキシカラ幼虫が証明されているので、虫体の迷入も可能性としては常に存在する。

眼迷入はトキシカラ症ではきわめて有名な病態であり、免疫応答の強さから考えると、感染量が少ないにもかかわらず眼へ移行していると推測できる。宿主側か寄生虫側に何らかの眼移行を促す要因があるように思われるが、上記のように眼型が低年齢層

に多く、内臓型が高年齢層に多い事実は、宿主側に何らかのの要因があるのではないかと疑わせるものである。

## E. 結論

2014年においても、わが国の寄生虫（蠕虫）疾患は肺吸虫症と動物由来回虫症が多数を占めていた。両方の疾患ともに患者の大多数は成人であり、原因は野生動物や畜産動物の生肉食と考えられた。動物由来回虫症では、これまでに世界的に認められている頻度の高い4病型（内臓型、眼型、神経型、無症候型）に加えて、比較的頻度の低い3病型（心臓型、消化管型、皮膚型）が認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shimizu S, Kikuchi T, Koga M, Kato Y, Matsuoka H, Maruyama H, Kimura M: Optimal primaquine use for radical cure of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium ovale* malaria in Japanese travelers - A retrospective analysis. *Travel Med Infect Dis*. doi: 10.1016/j.tmaid.2014.11.005. [Epub ahead of print], 2014
- 2) Nagayasu E, Yoshida A, Hombu A, Horii Y, Maruyama H: Paragonimiasis in Japan: A Twelve-year Retrospective Case Review (2001-2012). *Intern Med*. 54 (2): 179-186, 2015
- 3) Kodama M, Akaki M, Tanaka H, Maruyama H, Nagayasu E, Yokouchi T, Arimura Y, Kataoka H: Cutaneous paragonimiasis due to triploid *Paragonimus westermani* presenting as a non-migratory subcutaneous nodule: a case report. *J Med Case Rep*. 8: 346. doi: 10.1186/1752-1947-8-346, 2014
- 4) Uni S, Fukuda M, Otsuka Y, Hiramatsu N, Yokobayashi K, Takahashi H, Murata S, Kusatake K, Morita E, Maruyama H, Hasegawa H, Shiwaku K, Ramli R, Azirun MS, Takaoka H: New zoonotic cases of *Onchocerca dewittei japonica* (Nematoda: Onchocercidae) in Honshu, Japan. *Parasit Vectors*. 8 (1): 59, 2015
- 5) 釜井莉佳、松尾加代子、後藤判友、高島康弘、吉田彩子、丸山治彦、平健介、赤尾信明：牛に

おけるトキソカラ属回虫およびブタ回虫幼虫に対する抗体保有状況調査 *日本獣医寄生虫学会誌* 13 (1): 1-6, 2014

- 6) 吉田彩子、丸山治彦：人獣共通感染症としての動物由来回虫症 *日本獣医寄生虫学会誌* 13 (1): 21-26, 2014
- 7) Hino A, Tanaka T, Takaishi M, Fujii Y, Palomares-Rius JE, Hasegawa K, Maruyama H, Kikuchi T: Karyotype and reproduction mode of the rodent parasite *Strongyloides venezuelensis*. *Parasitology* 141 (13): 1736-1745, 2014
- 8) Tanaka R, Hino A, Tsai IJ, Palomares-Rius JE, Yoshida A, Ogura Y, Hayashi T, Maruyama H, Kikuchi T: Assessment of helminth biodiversity in wild rats using 18S rDNA based metagenomics. *PloS One* 9 (10): e110769 DOI: 10.1371/journal.pone.0110769, 2014
- 9) Kajitani R, Toshimoto K, Noguchi H, Toyoda A, Ogura Y, Okuno M, Yabana M, Harada M, Nagayasu E, Maruyama H, Kohara Y, Fujiyama A, Hayashi T, Itoh T: Efficient *de novo* assembly of highly heterozygous genomes from whole-genome shotgun short reads. *Genome Research* 24 (8): 1384-1395, 2014
- 10) 菊地泰生、丸山治彦：動物が動植物に入り込む！自由生活から寄生生活への進化モデル：糞線虫（細胞進化の証人たち：細胞進化モデル生物図鑑第12回）*細胞工学* 33 (10), 1086-1087, 2014

### 2. 学会発表

- 1) 吉田彩子、茂野佐弓、相原茉莉、早田弥生、本川和幸、野中成晃、丸山治彦：肉用牛における抗動物由来回虫抗体および抗トキソプラズマ抗体の保有状況 第8回蠕虫研究会、2014年9月6-7日、札幌市
- 2) 野中成晃、早田弥生、吉田彩子、丸山治彦、三澤尚明、堀井洋一郎：鶏の犬・猫・豚回虫感染に対する抗体検査法の検討 第8回蠕虫研究会、2014年9月6-7日、札幌市
- 3) Hombu A, Yoshida A, Nagayasu E, Kuroki M, Nonaka N, Maruyama H: Assessment on Efficacy

- and Safety of Albendazole for Ascarid Infections  
第8回蠕虫研究会、2014年9月6-7日、札幌市
- 4) 吉田彩子、黒木美香、野中成晃、丸山治彦：人獣共通感染症としての動物由来回虫症：日本における発生状況と傾向 第157回日本獣医学会学術集会、2014年9月9-12日、札幌市
- 5) 早田弥生、吉田彩子、丸山治彦、三澤尚明、堀井洋一郎、野中成晃：鶏における犬・猫・豚回虫感染検査法の検討 第157回日本獣医学会学術集会、2014年9月9-12日、札幌市
- 6) 中垣しおり、吉田彩子、菊地泰生、丸山治彦：ブタ回虫新規C-typeレクチン遺伝子のcDNAクローニングと発現解析 第67回日本寄生虫学会南日本支部大会・第64回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、2014年11月23-24日、那覇市
- 7) 菊地泰生、田中龍聖、日野明紀菜、吉田彩子、長安英治、丸山治彦：次世代DNAシーケンサを用いたメタゲノム解析による野生ラットの腸管寄生虫相分析 第67回日本寄生虫学会南日本支部大会・第64回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、2014年11月23-24日、那覇市
- 8) Maruyama H, Kikuchi T, Tsai JI, Hayashi T, Ito T, Viney M, Berriman M: Adaptation Strategy of Nematode to Parasitic Mode of Life; Genome Analysis of *Strongyloides venezuelensis*. Expanding Frontiers of Genome Science II、東京、2015年1月20-21日
- 9) 吉田彩子、中垣しおり、菊地泰生、丸山治彦：ブタ回虫新規C-typeレクチン遺伝子のcDNAクローニングと発現解析 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月21-22日、三鷹市
- 11) Nguyen THY, Wang Z, Sasaguchi K, Nishimura M, Maruyama H, Nonaka N, Yoshida A : Study on detection of *Ascaris suum* larval contamination in meat products by real-time PCR system 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月21-22日、三鷹市
- 12) Khin Myo Aye, 長安英治, 丸山治彦: Development of luciferase immunoprecipitation system (LIPS) for serodiagnosis of parasitic diseases. 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月21-22日、三鷹市
- 13) Nagayasu E, Myo Pa Pa Thet Hnin Htwe Aung, Hino A, Wa Win Htike, Maruyama H: Prevalence and genetic diversity of *Strongyloides stercoralis* in Lower Myanmar.: 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月21-22日、三鷹市
- 14) Maeda Y, Palomares-Rius JE, Karim N, Nakatake A, Nagayasu E, Hino A, Kikuchi T, Maruyama H: Secretome analysis of *Strongyloides venezuelensis* identified soluble and insoluble proteins related to parasitism of the nematode. 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月21-22日、三鷹市
- 15) 田中龍聖、日野明紀菜、Tsai Isheng J, Palomares-Rius JE, 吉田彩子、小椋義俊、林哲也、丸山治彦、菊地泰生：Assessment of helminth biodiversity in wild rats using 18S rDNA based metagenomics 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月21-22日、三鷹市

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

## 包虫症の適正な検査診断法 及び アルベンダゾール治療に関する研究

分担研究者	大前比呂思	城南病院附属クリニック	内科部長
		国立感染症研究所寄生動物部	客員研究員
研究協力者	杉山広	国立感染症研究所寄生動物部	第2室長
研究協力者	桐木雅史	獨協医科大学熱帯病寄生虫学室	准教授

**研究要旨：**感染症法でIV類感染症に指定されている包虫症のうち、主に単包虫症について、モンゴルの浸淫地で、免疫血清検査と画像検査の有用性と限界、さらに初期病変に対するアルベンダゾールの治療効果について検討した。国内で開発され現在市販されている Recombinant antigen B8/1 (rAgB8/1) & Recombinant antigen Em18 (rEm18) を用いた診断キットでは、包虫症の初期病変を検出できなかった。一方、超音波検査による画像所見は、上記診断キットでは陰性となる初期病変も補足でき、Western Blotting (WB) キットと併用することで、単包虫症の早期診断が可能になることがわかった。また、超音波検査で直径 2 cm以下の単純性嚢胞を示していたような例では、アルベンダゾール (800 mg/日) の4週間にわたる投与で、嚢胞が消失し WB キットによる検査結果も陰性化した。単包虫症では、超音波検査に WB を併用することで、一次スクリーニングのみならず、アルベンダゾール治療効果のモニタリングも可能になることがわかった。

### A. 研究目的

寄生蠕虫症のうち、感染症法での届け出義務があるのは、包虫症だけである。日本国内では、多包虫症の発症が重視されるが、世界的には単包虫症の方が患者も多く、感染症法では、単包虫症も含めた包虫症としてIV類感染症に指定されている。

現在、国内における包虫症確定診断後の年間届け出数は、20~30前後で推移しているが、多包虫は、北海道全域の野生動物に広く感染していると考えられる。野生の感染動物に対する大規模な介入は難しく、多包虫のヒトへの偶発的感染事例は、今後も続くと推測される。一方、輸入感染例では単包虫症が多いが、国内感染例の包虫症との鑑別が問題となる。

国内での包虫症の診断には、種々の免疫検査や分子生物学的検査に画像検査が組み合わせて用いられ、未だ明確な基準や定まったプロトコルはない状況である。また、国際的にみても、標準的な検査診断のプロトコルはない。国内におけるハイリスク例への一次検診には、免疫血清検査が

利用されるが、現在の一次検診の受診率はかなり低い。包虫症の治療は、外科的な嚢胞切除が中心になることが多いが、駆虫剤;アルベンダゾールによる化学療法的位置づけについては、様々な考え方があり混乱している。今後、日本国内において一次検診の受診率向上をはかり、感染者の早期発見に基づく包虫症治療を基礎とした対策を進めていくには、一次検診から確定診断、治療へと至る過程が、より明確に標準化される必要がある。

そこで、世界的には包虫症対策の中心で、日本国内で鑑別が問題となる単包虫症について、従来の報告から高い感染率が予測されたモンゴルの浸淫地で、スクリーニング法とアルベンダゾールによる治療法のあり方について検討した。

### B. 研究方法

包虫症の検査診断法の検討は、リコンビナント抗原を用い最近国内で販売され使用が始まったイムノクロマト法抗体検出キットの検証を中心に行った。単包虫症にADAMU CE (使用抗原 B8/1)、

多包虫症にはADAMU AE（利用抗原 Em18）が、比較的国内では入手しやすい（表1）。

モンゴルにおいて、1980年代の臨床例の報告から、単包虫症の中等度浸淫地とされるボルガン県及び高度浸淫地とされるアルハンガイ県で、聞き取り調査と腹部超音波検査を行った。聞き取り調査から何らかの肝病変の既往が疑われた例と超音波検査で肝嚢胞が認められた例について、イムノクロマト法による抗体検出キット、ウエスタン・ブロット法の両方を行って比較した。この検査では、血液の採取が必要になるので、被検者には、その旨を文書で確認し同意を得た場合についてのみ採血した。

表1 包虫症検出キットの概略

キット名	方法	使用抗原	価格
ADAMU CE	イムノクロ	Ag B8/1 単包虫	2160
ADAMU AE	マト法	Ag Em18 多包虫	2160
LDBIO WB	Western		3000
Echino IgG	blotting		~4000

また、国立感染症研究所に検査・診断依頼があった国内での症例についても、イムノクロマト法とWBの両方を行い確認した。外科的摘出標本の一部が得られたものについては、病巣の一部からDNAを抽出し、ミトコンドリアDNAのcox1遺伝子の塩基配列解析から包虫の種を同定した。なお、モンゴルでの血清検査、日本国内での確認検査については、各々国立感染症研究所の研究倫理委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

ボルガン県では、15~72才までの564人に超音波検査を行い、34例で肝嚢胞が検出された。一方、アルハンガイ県では、14~73才までの472人に超音波検査を行い27人で肝嚢胞を検出した。被検者の男女比は、両地域ともおよそ1:2で、やや偏りがみられた。

超音波検査で肝嚢胞が検出された全員について、ADAMU CEキットとWBによる単包虫感染のチェックを行ったところ、ADAMU CEキットが陽性を示した例はなかった（表2）。一方、WBでは、ボルガン県で6例、アルハンガイ県で4例の陽性例が見つかった。聞き取り調査で肝病変の既往が

示唆されたものの、超音波検査では病変が検出されなかった例には、ADAMU CEキットとWBとも陽性例はなかった。

表2 ADAMU CEキットとWBキットの検査結果の比較

キット名	使用抗原	陽性者数
ADAMU CE	Ag B8/1 単包虫	0 / 34
		0 / 27
LDBIO Diagnostics Echino IgG WB		5 / 34
		4 / 27

上段; ボルガン県 下段; アルハンガイ県

また、ボルガンで見つけられた単純性嚢胞5例のうちでは、直径2cm以下だった3例のうち2例で、アルベンダゾールによる4週間の治療のあと、超音波検査で嚢胞の消失が確認された。また、嚢胞が消失した例では、WBの結果も治療8か月後の検査で陰性化していることがわかった。

表3 アルベンダゾール治療後の包虫症検査結果の変化

	治療前	治療後8ヶ月
超音波所見		
肝嚢胞 直径 2 cm未満	3	1
直径 2 cm以上	2	2
LDBIO Diagnostics	3	1
Echino IgG WB	2	2

国立感染症研究所に検査・診断依頼があった沖縄在住の包虫症例は、イムノクロマト法抗体検出キットで陰性になったものの、WBキットでは陽性となった。この例は、摘出標本の塩基配列解析で、*Echinococcus granulosus*の感染が確定された。

### D. 考察

多包虫は、北海道全域の野生動物に広く感染していると推測され、今後もヒトへの偶発的感染事例が劇的に減少することは考えにくい。わが国において包虫症の早期発見に基づく治療的介入を進めるには、現在低迷している一次検診参加率を高める必要があるが、国際的にみても、標準化された早期スクリーニング体制のないことは、低い一次検診受診率の主因となっていると思われる。

今年度のモンゴル調査では、単包虫症について、

国内で開発されたRecombinant antigen B8/1 (rAg B8/1) によるイムノクロマト診断キットでは、初期病変を検出できなかったが、超音波検査スクリーニングで嚢胞を認めた例に対し、WBキット検査を併用することで、早期診断が可能となった。日本国内では、腹部超音波検査は、人間ドックや消化器系悪性腫瘍の検診に利用されることが多い。現在、包虫症一次検診は、免疫血清検査のみで行われている。今後は、超音波検査を包虫症一次検診に組み込めるよう、地域によっては、包虫症検診を、他の成人病や消化器系悪性腫瘍の検診と組み合わせ、受診率向上をはかる試みを検討すべきであろう。

ところで、調査対象となったモンゴルの2つの地域では、被検者の数や性比などの限界はあるものの、今回、単包虫感染率の違いは認められなかった。1980年代の臨床例の報告からは、ボルガン県とアルハンガイ県で、単包虫感染率の違いが推測され、今後適正な公衆衛生的な介入を考えるには、さらに詳しい疫学調査が必要と思われる。

#### E. 結論

単包虫症では、超音波検査による嚢胞検出で、既存のイムノクロマト診断キットでは陰性となる初期病変も補足でき、Western Blotting (WB) キットと併用することで、包虫症の早期診断が可能であることがわかった。また、超音波検査で直径2 cm以下の単純性嚢胞を示していたような例では、アルベンダゾール (800 mg/日) の4週間にわたる投与で、嚢胞が消失しWBキットによる検査結果も陰性化した。

F. 健康危険情報 該当なし

#### G. 研究発表

誌上発表

- 1 鉤虫症 大前比呂思 53-54 頁  
寄生虫症薬物治療の手引き 2014 改訂 8.2 版  
「わが国における熱帯病・寄生虫症の最適な診断治療体制の構築」研究班
- 2 Detection of active schistosome infection by cell-free circulating DNA of *Schistosoma japonicum* in highly endemic areas in Sorsogon Province, the Philippines.

Kato-Hayashi N, Leonardo LR, Arevalo N L, Tagum MN, Apin J, Agsolid LM, Chua JC, Villacorte EA, Kirinoki M, Kikuchi M, Ohmae H, Haruki K, Chigusa Y. *Acta Trop.* 2015 Jan:178-83.

- 3 A case of quadruple malaria infection imported from Mozambique to Japan. Oki M, Asai S, Saito-Nakano Y, Nakayama T, Tanaka Y, Tachibana H, Ohmae H, Miyachi H. *Am J Trop Med Hyg.* 2014 90(6):1098-101

口頭発表

- 1 Monitoring of schistosomiasis control programmes using serological tests in Southeast Asian countries. Ohmae H. Informal meeting of World Health Organization on diagnostic methods of schistoasomiasis in low transmission areas. Geneva, Feb. 7, 2015.
- 2 世界的な感染症対策の動向とアジア  
大前比呂思  
静岡大学合同シンポジウム 感染症パンデミックと東アジア 静岡 2月21日 2015

#### 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**：近年、抗マalaria薬に抗住血吸虫作用があることが明らかになっているが、新規合成化合物、N-89/N-251も抗マalaria作用と同時に住血吸虫に対する効果も併せて持っている。今年度はN-89/251の住血吸虫に対する効果発現機序がマalaria原虫に対する効果とは異なって住血吸虫の酸性オルガネラを標的としているという昨年度までの解析結果のさらに詳細な観察を進めるために、薬剤標的部位がリソソームと特定できるか否かを調べた。リソソームに特異的なタンパク質であるLAMP1を指標に検討したが、この条件ではN89/251の作用部位がリソソームであることの確証は得られなかった。さらに、最近では多種寄生虫に効果を示す薬剤も報告されているが、N-89/251もマalaria、住血吸虫にとどまらず、住血原虫であるアフリカトリパノソーマにも *in vitro* において効果のある可能性が示唆され、多様な薬効を示す薬剤として広い応用性が期待された。

### A. 研究目的

熱帯寄生虫病はわが国の国際化とともに輸入感染症の一角を占め、国民の健康問題として無視する事が出来ない状況にある。今日では比較的少数の抗寄生虫薬で医療対応を行っているのが実情であるが、薬剤耐性の出現も相次ぎ、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、一般に抗寄生虫薬の開発は困難である。しかし、合成可能な抗寄生虫活性物質が開発され、薬効機序が明らかにされるならば、分子修飾も加えて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する目的で、抗住血吸虫作用を持つ合成化合物、N-89/251を用いて、作用表分子的分子の同定を通じた作用機序解明を進める他、薬効スペクトラムの検討も含めて、今後の抗寄生虫薬開発関連領域のイノベーションへの貢献を企図した。

### 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。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

検討した抗寄生虫薬は、抗マalaria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である(図1)。

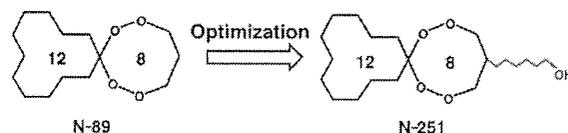


図1 N-89とN-251の構造式

N-89/N-251は水に不溶性であるため、DMSOに溶解してシストソミユラに作用させた。対照としてはDMSO溶液を設定した。

#### 抗LAMP1抗体

リソソーム特異的タンパク質を検出する目的で、市販の抗ヒトLAMP1抗体を用いて、マンソン住血吸虫のLAMP1に対する反応性をウエスタンブロットティングで調べた。

#### LAMP1タンパク質とローダミン標識N-251の共局在検討

シストソミューラにローダミン標識N-251とFITC標識抗LAMP1抗体を添加して、蛍光標識の観察を行った。

#### N-89/251の他種住血原虫に対する作用

マラリア、住血吸虫以外の熱帯寄生虫に対する効果を調べるために、マラリアと同様に住血原虫であるアフリカトリパノソーマ原虫 (*Trypanosoma brucei gambiense*, GUTat1.1株)に対する殺滅効果をin vitroで検討した。

(倫理面への配慮)

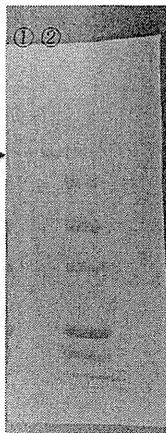
本研究での実験にはヒト試料及び実験動物を使用していないが、マ Manson 住血吸虫の実験室内維持にはマウスが必要であり、東京医科歯科大学動物実験委員会承認を得て実施した(承認番号0150016A)。

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

#### 抗ヒトLAMP1抗体のマanson 住血吸虫LAMP1との反応性

抗ヒトLAMP1抗体がマanson 住血吸虫のLAMP1と反応することをウエスタンブロッティングにて検証した。LAMP1自体が糖鎖修飾を受けているためマanson 住血吸虫のLAMP1の分子量が必ずしも確定しないが、マanson 住血吸虫lysateに特異バンドと思われる反応が確認され(①、②)、この抗体がマanson 住血吸虫にも利用可能であると判断した(図-2)。



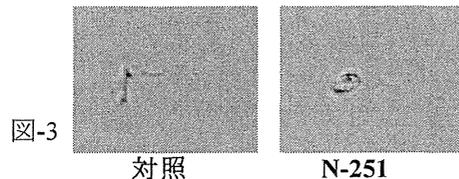
#### LAMP1とN-251の共局在の検討

ローダミン標識N-251をin vitroで非致死量を作作用させ、さらにFITC標識抗ヒトLAMP1抗体を添加してシストソミューラ体内での蛍光標識の発現を観察した。その結果、この実験条件では共局在を示す像が観察できず、N-251の標的部位がリソソームであることを特定することはできなかった。

#### N-89/251の他の住血原虫に対する効果

N-89/251の熱帯寄生虫症治療への応用の可能性を調べるために、本年度はアフリカトリパノソーマ

に対する殺虫効果を検討した。GUTat 1.1株に対するN89のIC50は208nM、N-251はその半量で原虫は殺滅され、形態的にも著しい変化が見られ(図-3)、同剤が少なくとも3種類の熱帯寄生虫病に対する治療効果を持つ可能性が示唆された。



### D. 考察

抗マラリア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障害作用を示し、in vitroの検討ではシストソミューラ体内のlysotrackeで検出される酸性小器官に集積し、やがてそれらの器官が時間の経過と共に消失する現象が観察されている。そのことは住血吸虫の酸性オルガネラの破壊による殺虫機序の存在が強く示唆される。

酸性オルガネラが具体的に何であるかは確証がな取れなかったため、今年度はより特異的な同定を目指してリソソーム特異的タンパク質の検出系を利用したN-251との共局在の観察を試みた。しかし、今回用いた検討条件ではN-251との共局在を確認することができなかった。このことが、リソソーム以外の酸性オルガネラが標的部位であることを示すのか、または抗体の特異性が十分でなかったのかを確認する必要がある。

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、この事実を確認できれば更なる分子修飾を通じた薬効の改良が検討されることが期待される。

プラジカンテルやアルテシニン系薬剤、メフロキシンなど、属を超えて薬効を示す抗寄生虫薬として情報が報告整理されてきており、このことは流行地における集団駆虫の際に、単一薬剤による多種寄生虫の駆虫効果を期待する事にもなるが、他方で、薬用量が不十分な寄生虫に対しては耐性誘導の選択圧になる可能性も考えなくてはならない。今回、N-89/251がアフリカトリパノソーマにも効果のある事が観察されたが、マラリア、住血吸虫症、アフリカトリパノソーマ症と流行域が

重複する地域も多く、薬剤選択についての新しい戦略を検討することが必要と思われた。

3.その他  
特になし

## E. 結論

強い抗マラリア活性を持つ合成化合物 N-89/251 は住血吸虫の幼虫に対しても殺虫効果を示すが、それぞれの寄生虫の薬剤的器官／分子は異なっている。住血吸虫の場合はリソソームが標的と推定しているが、そのエビデンスは得られなかった。N-89/251 はマラリア以外の住血原虫にも殺虫効果を持つことが観察され、今後広く熱帯寄生虫に対する薬剤として実用化される可能性が期待された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Tung NH, Suzuki M, Uto T, Morinaga O, Kwofie KD, Ammah N, Koram KA, Aboagye F, Edoh D, Yamashita T, Yamaguchi Y, Setsu T, Yamaoka S, Ohta N, Shoyama Y. Anti-trypanosoma activity of diarylheptanoids isolated from the bark of *Alnus japonica*. *Am J Chin Med*, 42:1245-60, 2014.

### 2. 学会発表

(1) Yamabe M, Kumagai T, Shimogawara R, Ichimura K, Seki T, Kim HS, Ohta N. Efficacy and target of endoperoxide N-89 and N-251 against larval stage *Schistosoma mansoni*. ICORA XIII, August 2014, Mexico City.

(2) 山邊将史、熊谷貴、下河原理江子、市村浩一郎、金恵淑、太田伸生 マンソン住血吸虫シストミユラの酸性オルガネラ内におけるN-251の標的因子の探索 第84回日本寄生虫学会大会、2015年3月、三鷹市

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 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レイアウト (参考)

## 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
春木宏介	原虫 マラリア <i>Plasmodium</i> spp.		微生物検査 イエローペー ジ(増刊号)	医学書院	東京	2014	1430-1434
春木宏介	5.海外渡航者用 ワクチン(トラベ ラーズワクチン) 3)狂犬病ワクチ ン	渡辺彰、尾 内一信	そこが知りた い!成人病の 予防接種パー フェクト・ガ イド	診断と治 療社	東京	2014	54-57, 200, 218
春木宏介	原虫症・寄生虫 病治療薬	小松康宏、 渡邊裕司	Pocket Drugs 2014	医学書院	東京	2014	938-945
春木宏介	4.抗原虫薬 1)抗原虫薬の種 類と使い方は?	八木哲也	抗菌薬・抗微 生物薬の選 び方・使い方Q &A スッキ リわかる使い 分けのコツと ポイント	文光堂	東京	2014	283-290
木村幹男、 丸山治彦	67. 抗原虫薬・抗 蠕虫薬	監修：高久 史磨 編集：堀正 二 他	治療薬ハンド ブック2015	じほう	東京	2015	1372-1376
木村幹男	マラリア (バベ シア症を含む)	監修：山口 徹、北原光 夫 編集：福井 次矢 他					

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
Sakamoto N, Maeda T, Mikita K, <u>Kato Y</u> , Yanagisawa N, Suganuma A, Imamura A, Nakamura-Uchiyama F, Miyahira Y, Kawana A, Ohnishi K, Ajisawa A.	Clinical presentation and diagnosis of toxoplasmic encephalitis in Japan.	Parasitol Int.	63	701-704	2014
Tanizaki R, <u>Kato Y</u> , Iwagami M, Kutsuna S, Ujiie M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kano S, Ohmagari N.	Performance of rapid diagnostic tests for <i>Plasmodium ovale</i> malaria in Japanese travellers.	Trop Med Health	42	149-153	2014
忽那賢志, 小林泰一郎, <u>加藤康幸</u> , 藤谷好弘, 馬渡桃子, 氏家無限, 竹下望, 早川佳代子, 金川修造, 水野泰孝, 狩野繁之, 大曲貴夫	アーテメター・ルメファントリン合剤の日本人における使用経験.	感染症誌	88	833-839	2014
<u>Kimura M</u> , Fujii T, Carroll B	Prioritising immunisations for travel: International and Japanese perspectives.	Travel Med Infect Dis	12	118-128	2014
木村幹男, <u>加藤康幸</u> , 古賀道子, 菊地正, 清水少一, <u>丸山治彦</u>	アーテスネット坐薬の有効性と安全性 - 熱帯病治療薬研究班のデータから	Clinical Parasitology	25	46-49	2014
日谷明裕, 党 雅子, <u>春木宏介</u> , <u>木村幹男</u>	「解説」マラリアに対する治療薬	臨床免疫・アレルギー科	62 (4)	447-454	2014
Nakajima A, Yazawa J, Sugiki D, Mizuguchi M, Sagara H, Fujisiro M, Sibazaki M, Hitani A, To M, <u>Haruki K</u>	Clinical utility of procalcitonin as a marker of sepsis : a potential predictor of causative pathogens	Intern Med.	53	1497-1503	2014
叶一乃, 柴田明佳, 近藤陽一, 中原英臣, 近藤陽平, 島村明花, 党雅子, 日谷明裕, <u>春木宏介</u> , 松本哲哉	グラム陽性菌とグラム陰性菌にみられる塩化メチルロザリニンに対する感受性について	新渡戸文化短期大学臨床検査学研究所雑誌	1 (1)	63-67	2014
島村明花, 稲垣あかり, 矢澤淳子, 飯草正実, 永野栄子, 山本芳尚, 柴崎光衛, 党雅子, <u>春木宏介</u>	慢性中耳炎患者の耳漏から検出された <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> の一例	埼臨技会誌	61 (3)	253-256	2014
山本芳尚, 稲垣あかり, 島村明花, 矢澤淳子, 飯草正実, 永野栄子, 柴崎光衛, <u>春木宏介</u>	電撃性紫斑と DIC を伴った <i>Capnosytopage canimorsus</i> による敗血症の一例	埼臨技会誌	61 (4)	270-275	2014

日谷明裕、山谷和花、 党雅子、叶一乃、本田 なつ絵、高崎智彦、春 木宏介	デング熱罹患後にくつ状態が 遷延化し脱毛を伴った1例	感染症学雑 誌	89 (2)	279-282	2015
Shimizu S, Kikuchi T, Koga M, <u>Kato Y</u> , Matsuoka H, <u>Maruyama</u> <u>H</u> , <u>Kimura M</u>	Optimal primaquine use for radical cure of <i>Plasmodium vivax</i> and <i>Plasmodium ovale</i> malaria in Japanese travelers - A retrospective analysis.	Travel Med Infect Dis	doi: 10.1016/j.tmaid. 2014.11.005.		2015
Nagayasu E, Yoshida A, Hombu A, Horii Y, <u>Maruyama H</u>	Paragonimiasis in Japan: A Twelve-year Retrospective Case Review (2001-2012)	Intern Med.	54 (2)	179-186	2015
Kodama M, Akaki M, Tanaka H, <u>Maruyama H</u> , Nagayasu E, Yokouchi T, Arimura Y, Kataoka H	Cutaneous paragonimiasis due to triploid <i>Paragonimus westermani</i> presenting as a non-migratory subcutaneous nodule: a case report.	J Med Case Rep.	8	346	2014
Uni S, Fukuda M, Otsuka Y, Hiramatsu N, Yokobayashi K, Takahashi H, Murata S, Kusatake K, Morita E, <u>Maruyama H</u> , Hasegawa H, Shiwaku K, Ramli R, Azirun MS, Takaoka H	New zoonotic cases of <i>Onchocerca dewittei japonica</i> (Nematoda: Onchocercidae) in Honshu, Japan.	Parasit Vectors.	8 (1)	59	2015
釜井莉佳、松尾加代子、 後藤判友、高島康弘、 吉田彩子、 <u>丸山治彦</u> 、 平健介、赤尾信明	牛におけるトキソカラ属回虫 およびブタ回虫幼虫に対する 抗体保有状況調査	日本獣医寄 生虫学会誌	13 (1)	1-6	2014
吉田彩子、 <u>丸山治彦</u>	人獣共通感染症としての動物 由来回虫症	日本獣医寄 生虫学会誌	13 (1)	21-26	2014
Hino A, Tanaka T, Takaishi M, Fujii Y, Palomares-Rius JE, Hasegawa K, <u>Maruyama</u> <u>H</u> , Kikuchi T	Karyotype and reproduction mode of the rodent parasite <i>Strongyloides venezuelensis</i> .	Parasitology	141 (13)	1736-1745	2014
Tanaka R, Hino A, Tsai IJ, Palomares-Rius JE, Yoshida A, Ogura Y, Hayashi T, <u>Maruyama H</u> , Kikuchi T	Assessment of helminth biodiversity in wild rats using 18S rDNA based metagenomics.	PloS One	9 (10)	e110769	2014
Kajitani R, Toshimoto K, Noguchi H, Toyoda A, Ogura Y, Okuno M, Yabana M, Harada M, Nagayasu E, <u>Maruyama</u> <u>H</u> , Kohara Y, Fujiyama A, Hayashi T, Itoh T	Efficient <i>de novo</i> assembly of highly heterozygous genomes from whole-genome shotgun short reads.	Genome Research	24 (8)	1384-1395	2014
菊地泰生、 <u>丸山治彦</u>	動物が動植物に入り込む！自 由生活から寄生生活への進化 モデル：糞線虫	細胞工学	33 (10)	1086-1087	2014

Kato-Hayashi N, Leonardo LR, Arevalo NL, Tagum MN, Apin J, AgsolidLM, Chua JC, Villacorte EA, Kirinoki M, Kikuchi M, <u>Ohmae H</u> , Haruki K, Chigusa Y.	Detection of active schistosome infection by cell-free circulating DNA of <i>Schistosoma japonicum</i> in highly endemic areas in Sorsogon Province, the Philippines.	Acta Tropica	46	178-183	2015
Oki M, Asai S, Saito-Nakano Y, Nakayama T, Tanaka Y, Tachibana H, <u>Ohmae H</u> , Miyachi H.	A case of quadruple malaria infection imported from Mozambique to Japan	Am J Trop Med Hyg	90	1098-1101	2014
Tung NH, Suzuki M, Uto T, Morinaga O, Kwofi KD, Ammah N, Koram KA, Aboagye F, Etoh D, Yamashita T, Yamaguchi Y, Setsu T, Yamaoka S, <u>Ohta N</u> , Shoyama Y.	Anti-trypanosoma activity of diarylheptanoids isolated from the bark of <i>Alnus japonica</i> .	Am J Chin Med	42	1245-1260	2014

#### IV 研究成果の刊行物・別刷

原虫  
マラリア  
*Plasmodium* spp.

はる き こと まげ  
春木 宏介<sup>1)</sup>

## 菌の基本情報

### 1. 性状と特徴

- ・ 住血胞子虫類に属する。
- ・ ハマダラカ (*Anopheles* spp.) によって媒介される。
- ・ 主として4種(熱帯熱マラリア: *Plasmodium falciparum*, 三日熱マラリア: *P. vivax*, 四日熱マラリア: *P. malariae*, 卵形マラリア: *P. ovale*)が、また、人に感染するサルマラリア (*P. knowlesi*)を入れた場合には5種が知られている。
- ・ ヒトでは赤血球内に寄生。感染初期に肝細胞内において増殖する場合と休眠期に入る場合がある。
- ・ 末梢血における形態としては栄養体、分裂体、生殖母体が知られている。
- ・ 流行地では無症状で原虫血症をきたしている例もみられる。
- ・ 終宿主は *Anopheles* spp. の蚊である。
- ・ 流行地は主として熱帯、亜熱帯であるが三日熱マラリアは温帯にもみられる。

### 2. 患者背景

- ・ 流行地への渡航。
- ・ まれに輸血。
- ・ まれに空港近辺在住(エアポートマラリア)。
- ・ 実験室内感染。
- ・ 熱帯熱マラリアでは非免疫患者の場合、未治療では重症化し死に至る場合も少なくない。
- ・ 現在のところ有効なワクチンはない。

### 3. 症状・病態

- ・ 発熱: 熱帯熱では不規則、三日熱および卵形で

は48時間ごと、四日熱では72時間周期の発熱がみられる場合が多い。

- ・ 初発症状が下痢の場合もある。
- ・ 黄疸: 赤血球の破壊によるもので間接ビリルビン優位である。
- ・ 病初期はインフルエンザ様の咽頭痛を認める場合もある。
- ・ 低血糖は熱帯熱マラリアの合併症の1つであり注意を要する。
- ・ 肝脾腫は特に三日熱に特徴的である。
- ・ 感染赤血球による臓器の低酸素血症が熱帯熱でしばしばみられる。

### 4. 薬剤感受性

- ・ 種と地域によって異なる。多剤耐性株がタイ-カンボジア国境、タイ-ミャンマー国境にみられる。
- ・ 三日熱マラリアではクロロキシン、プリマキン耐性株がインドネシアやパプアニューギニアから報告されている。
- ・ 熱帯熱の多くはクロロキシン耐性である。

### 5. バイオセーフティレベル

レベル2。

### 6. 感染症法上の分類

4類感染症である。

### 7. 伝播様式

ハマダラカ (*Anopheles* spp.) によって媒介される。約60種のハマダラカが知られているが、わが国で媒介可能なものとしてはシナハマダラカ (*A. sinensis*) が知られている。ハマダラカは夜間、屋内で吸血する習性をもつ。蚊の唾液腺から

1) 獨協医科大学越谷病院 臨床検査部 〒343-8555 埼玉県越谷市南越谷2-1-50

表1 ヒトマラリアの鑑別点

	熱帯熱	三日熱	四日熱	卵形
潜伏期	9~14(12)日	12~17(15)日 6~12カ月	18~40(28)日	16~18(17)日
発熱周期	24, 36, 48日	48日	72日	48日
感染赤血球 栄養型	腫大しない 複数感染あり	腫大する アメーバ様	腫大しない バンドフォーム	やや腫大する 卵形で辺縁がのこぎり状
分裂体中のメロゾイド数	8~32	12~24	6~12	4~16
再発	なし	あり	なし	あり
再燃	あり	なし	あり	なし
薬剤耐性	あり 広範に分布	クロロキン耐性 (ニューギニア)	なし	なし

(春木宏介: マラリア 17 原虫感染症. カラー版 内科学(門脇孝, 永井良三編), 西村書店, pp1880-1883, 2012 より転載)

スポロゾイトが人体内に注入されると、直ちに幹細胞に侵入しヒプノゾイトと呼ばれるステージとなる。ヒプノゾイトは分裂体となりメロゾイトを血中に放出する。このメロゾイトが赤血球に侵入、寄生する。また赤血球に侵入したメロゾイトは栄養型となりリングフォームを形成する。やがて栄養型は分裂体となり、溶血が起こりメロゾイトを放出する。そしてメロゾイトが再度新たな赤血球に感染する。このサイクルが人体内における無性生殖である。一方、幹細胞でのヒプノゾイトの一部は休眠期となり三日熱、卵形マラリアの再発の原因となる。休眠型のヒプノゾイトは熱帯熱、四日熱マラリアには存在せず、これらが再び出現する場合は再燃と呼び再発とは区別する。赤血球に感染した一部の原虫は、生殖母体という雌雄のステージへと分化し、蚊によって吸血されるのを待つ。蚊の体内に入った生殖母体は蚊の消化管で有性生殖を行い、スポロゾイトとなって唾液腺に移行する(表1)<sup>1)</sup>。

### 8. 主要な病原因子

熱帯熱マラリアでは感染赤血球の成熟栄養体や分裂体表面に Knob といわれる突起物が派生し、血管内皮細胞の CD36, トロンボスポンジン(thrombospondin)や細胞間接着分子(intercellular adhesion molecule: ICAM)-1 レセプターに付着し、sequestration と呼ばれる現象を引き起こす。これに非感染赤血球がロゼットを形成し細胞を虚血に陥らせる。よって熱帯熱マラリアでは原虫の多数寄生や脾臓摘出患者以外では、血中に初期栄養体と生殖母体以外は出現しないことが多い。熱帯熱以外のマラリアでは、感染赤血球の破壊に伴うサイトカイン増加が主とした病原因子であり、破壊赤血球処理のため肝脾腫が出現する。

### 9. 疫学

マラリアは広く熱帯亜熱帯に分布し、熱帯熱マラリアによって年間 100 万人の死者が出ていると推測される。三日熱マラリアはかつてわが国にも存在し、現在でもロシア南部や中国の一部、韓国、北朝鮮間の非武装地帯などでもみられる。

## 培養・同定の方法

### 1. 培養, 染色による検出

#### 1) 培地・培養

培養は RPMI 1640 培地に HEPES[2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid]バッファーを加えヒト AB 血清を添加し 5% に調整したものを用いるが、マラリアの診断には通常用いない。

#### 2) 染色

マラリアの診断には形態の確認が必要なため、Giemsa 染色がゴールドスタンダードである。通常 Giemsa 染色のバッファーは pH 6.8 であるが、マラリアには 7.2~7.4 のものを用いる。血液塗抹標本の作製の際は、通常の塗抹に加え血液を 1 滴スライドグラスにのせ高層標本を作製する。通常の塗抹部分はエタノール固定するが高層

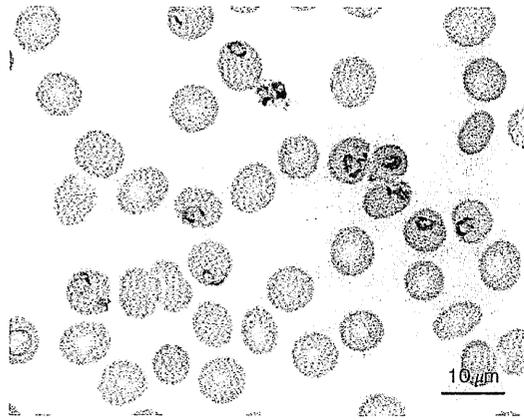


図1 熱帯熱マラリア原虫  
複数感染やクロマチンドットが2個みられる。

部分は固定しない。5~10% Giemsa 染色液に浸し30~10分間染色する。検鏡は油浸1,000倍で行う。このほか簡易なフィールド染色や集団検診に有用なアクリジンオレンジ法があるが、通常の検査室ではあまり用いられていない。

## 2. 原虫の同定

### 1) Giemsa 染色による形態学的診断<sup>2)</sup>

Giemsa 染色はマラリアの同定には不可欠な方法であり、必ず行う必要がある。形態的には感染している赤血球が腫大している場合には三日熱か

卵形マラリアを疑う。熱帯熱マラリアは複数感染やクロマチンドットが2個観察されることがある。熱帯熱マラリアは一般的に末梢血にはリングステージのみが観察され、そのほかのマラリアではさまざまなステージがみられる。しかし熱帯熱マラリアであつても脾臓を摘出した患者の場合や、非常に多くの原虫が寄生している場合には末梢血中に後期栄養型(late trophozoite)がみられることもある(図1, 2)。

### 2) 抗原検出検査<sup>3)</sup>

抗原を検出するイムノクロマト法(immunochromatography)としてはマラリア原虫のpLDH(plasmodium lactase dehydrogenase)やHRP(histidine rich protein), アルドラーゼ(Aldorase)などを検出するものがある(表2)<sup>4)</sup>。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。しかし治癒後も数カ月の間陽性となる。pLDHを検出するものでは少数寄生では感度は落ちるものの、治癒により速やかに陰性化するため、治癒判定に用いることができる。既存の抗原検出検査(rapid diagnostic test : RDT)はヒトマラリアを対象としているため、サルマラリアでは熱帯熱マラリアや三日熱マラリアと判定されるものがあるので注

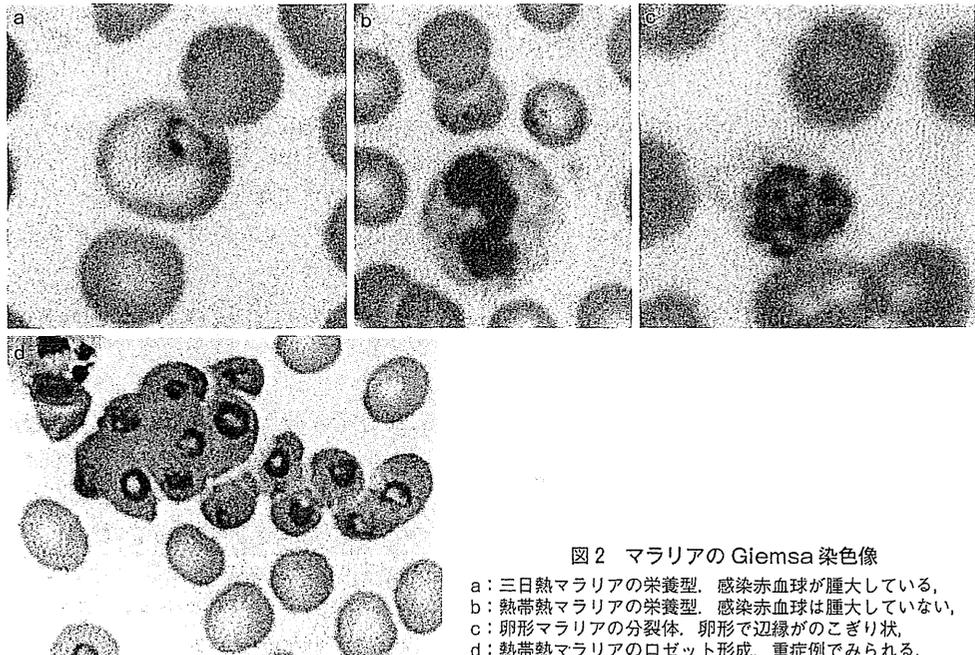


図2 マラリアの Giemsa 染色像

a: 三日熱マラリアの栄養型。感染赤血球が腫大している。  
b: 熱帯熱マラリアの栄養型。感染赤血球は腫大していない。  
c: 卵形マラリアの分裂体。卵形で辺縁がのこぎり状。  
d: 熱帯熱マラリアのロゼット形成。重症例でみられる。