

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

寄生虫症に関するサーベイランス強化に関する研究

研究分担者 永宗喜三郎 国立感染症研究所寄生動物部 第1室長

研究協力者 八木田健司 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
泉山信司 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
森嶋康之 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
杉山 広 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
中野由美子 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
案浦 健 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
長谷川晶子 愛知県衛生研究所生物学部医動物研究室 主任研究員
海野友梨 茨城県衛生研究所細菌部 技師

研究要旨 感染症法で第四類に分類されるマラリアとエキノコックスについて、国内における検査体制の整備と発生動向の監視に関する作業に取り組んだ。まずマラリアについては、検査診断法に関する技術研修に取り組み、検疫所への情報提供に努めた。エキノコックスについては、地方衛生研究所等と連携してヒトおよびイヌの疑診例に関する依頼検査を実施し、同時に患者情報を収集して、本病の流行予防に資する体制の整備に努めた。食品媒介寄生虫症である旋毛虫および住肉胞子虫に関しては、地方衛生研究所と連携して、原因に係わる情報の解析に取り組んだ。

A. 研究目的

寄生虫症に関して感染症法では、5つの病原体（類）を原因とする疾病が規定される。このうちマラリアは、エイズおよび結核と並ぶ世界三大感染症とされ、致死性の発熱性疾患として検疫感染症中でも重要な位置を占める（感染症法では4類感染症）。我が国では検疫所が水際での防圧に取り組んでいることから、検疫所の職員に対して、検査診断法に関する技術研修と情報提供が必要と考えられた。今年度は昨年度に引き続き、そのための作業に取り組んだ。

動物由来感染症としても重要なエキノコックス症（多包性と単包性）は、マラリアと同じく感染症法では4類に分類される。

ヒトおよびイヌの感染例については、それぞれ診断した医師もしくは獣医師が届出の義務を負う。我が国に土着するエキノコックスは、多包性の原因種である多包条虫 *Echinococcus multilocularis* であるが、分布は北海道に限局すると考えられてきた。しかし、ヒトへの感染源となるイヌの感染例は、2005年の埼玉県の例に続き、2014年にも愛知県で発見され、我が国全土に及ぶ本症の拡散が懸念されている。そのために、北海道から他の都府県へのエキノコックス症拡散監視を強化する目的で、地方衛生研究所等と連携し、ヒトおよびイヌなどの動物の疑診例に関する依頼検査を実施するとともに、2014年にイヌの感染例が発見され

た愛知県については新規検査法を導入して、本症の流行監視強化を図った。

食品媒介寄生虫症もまた、地方衛生研究所（以下、地研と略）との間でラボネットワークの強化に取り組むべき重要な課題である。今年度は旋毛虫および住肉孢子虫に関して、茨城県で発生した熊肉摂食を原因とする旋毛虫症、および滋賀県、茨城県で発生したシカ肉を原因とする住肉孢子虫による有症事例を例題に、検討に取り組んだ。

B. 研究方法

1. マラリア

厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会に参加した検疫所職員を対象に、マラリアの概論について情報提供し、検査診断法に関する技術研修と情報提供に努めた。また実地に即した研修とするため、迅速診断キットのデモと研修者参加型のクイズ形式でのトレーニングを今年度は実施した。

2. エキノコックス症

当部では全国の地研や国内外の医療機関から、感染症法で4類に規定されるエキノコックス症をはじめとして、他の寄生虫症に関しても依頼検査を受け付けている。今年度（平成30年3月19日現在）は新規分として計52件の蠕虫症検査依頼があり、このうちエキノコックス症を疑う症例はヒト7件、動物（イヌ、ホンドギツネ）6件の計13件であった。ヒト由来試料は、血清の場合はウェスタンブロット法による免疫学的検査を、組織の場合はPCR法による遺伝子検査をそれぞれ行った。動物由来試料は糞便で、PCR法による遺伝子検査を行った。また、エキノコックス定着が懸念される愛知県では、監視体制強化を図って昨年度よ

りイヌの検査項目に遺伝子検査を導入したので、今年度もこれを継続した。

3. 旋毛虫症

一昨年末（2016年12月）に茨城県で発生した事例は、我が国で第4例目となる集団発生事例である。集団事例はいずれもクマ肉を原因とするが、肉が生あるいは冷凍保管品の非加熱状態で提供された過去の3事例と異なり、本事例は原因肉に1回または2回の加熱処理が行われていたことが茨城県の調査で明らかになった。すなわち、2016年11月24～26日提供品は患者調理品、同11月29以降提供品は患者調理品を小分け冷凍保管し、提供の都度、解凍再加熱を行ったものである。そこでこれらの影響を評価するため、処理前後の発症率を比較した。

4. 住肉孢子虫

検体は滋賀県での有症事例2例および茨城県の有症事例1例のシカ肉残品、北海道産狩猟エゾシカ（市販）、滋賀県内捕獲シカの肉を材料とした。エゾシカならびにシカ肉検体より実体顕微鏡下で形態的な差異に基づきサルコシストを単離し、個別にDNAを抽出し、厚生労働省通知法に基づき18SrDNAの多型領域を含む部分増幅を行った。PCR産物のシーケンス解析から既知種、遺伝子型との同一性を調べ、シカ感染サルコシスティス特異的プライマーを設計し、これを用いた定性PCR系を構築した。

C. 研究結果

1. マラリア

厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会では、全国13検疫所本所および3空港検疫所支所から、検疫所

職員が合計 17 名参加した。マラリアの講義（本邦と近隣諸国の感染状況・診断・最新のワクチン情報）を行い、迅速診断キットに関する実習（デモ）を実施した。また参加者をグループに分けたクイズ形式での簡単な診断トレーニングを実施し、研修効果の改善に努めた。また東京国際空港保健衛生管理運営協議会にてマラリアに関する講演を行い、各委員会メンバー（東京検疫所東京空港検疫所支所長、検疫医療専門職員、検疫官、東京都福祉保健局職員、大田区保健所職員、東京入国管理局職員など他）38 名との情報交換を行い、連携を強化した。H29 年 4 月から H30 年 2 月末までに全国各地の医療機関から受入れたマラリア種別の依頼検体は 2 例であり、それらは熱帯熱マラリアと卵型マラリアの混合感染例、ならびに三日熱マラリア陽性例であった。また 3 件の診断に関する相談を受入れ、5 箇所の地方衛生研究所に診断のための陽性コントロールを配布した。

2. エキノコックス症

ヒト疑診例は、血清 6 例はすべて陰性であったが、組織材料 1 例が陽性であった。この症例は北海道居住歴があり、同地での感染が考えられ、解読した 12S rRNA および *cox1* 塩基配列もそれを支持した。なお、本症例は追加実施した抗体検査でも陽性結果を示した。動物由来試料については海外依頼例 1 例のみが陽性で、国内依頼例（5 例）からは陽性例は検出されなかった。愛知県では 2015 年 10 月から 2018 年 1 月の期間中に県動物保護管理センター知多支所に抑留または保護されたイヌ等に由来する糞便 66 検体（内訳：イヌ 61、キツネ 4、タヌキ 1）について DNA の調製を行い、現在結果を解析中である。

3. 旋毛虫症

加熱等の処理による発症率への影響を検討したところ、加熱品摂取群（10 名摂取、全員発症）と再加熱品摂取群（21 名摂取、11 名発症）の発症率は有意に異なった。

表. 加熱等処理と旋毛虫症発症率の比較

摂取内容	患者/摂取者（発症率%）		
	男	女	合計
加熱品	9/9 (100)	1/1 (100)	10/10 (100)
再加熱品	2/5 (40)	9/16 (56.3)	11/21 (52.4)
合計	11/14 (78.6)	10/17 (58.8)	21/31 (67.7)

加熱品摂取群 vs. 再加熱品摂取群

男：Fisher's exact $P=0.027$

女：Fisher's exact $P=1.000$

合計：Fisher's exact $P=0.012$

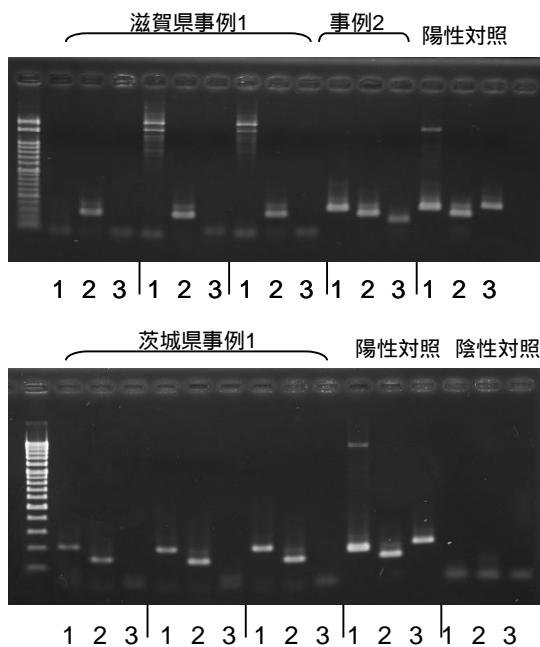
合計：Mantel-Haenszel $P=0.043$

3. 住肉孢子虫

北海道産エゾシカより形態的に 2 つのサルコシストのタイプを検出した。18SrDNA 増幅配列を調べた結果、小型のタイプ A はシカでの報告のある *Sarcocystis pilosa* (99%) と、一方大型のタイプ B は、エゾシカより報告のある *Sarcocystis* sp. と高い相同性 (99%) を示した。また滋賀県産のシカより形態的に 2 つのタイプを検出し、大型のタイプ C はノロジカから報告された *S. entzeroth* と高い相同性 (97%) を示した。もう一方のタイプ D は現在解析中である。肉眼的には大型のタイプ B シストは肉内に少数散在するのに対し、小型のタイプ A シストはかなりの高密度で分布

していた。タイプ C のサルコシストは肉眼的にはタイプ A タイプのものと極めて近似していた。タイプ特異的 PCR プライマーを用いた PCR 系を構築し、有症事例のシカ肉抽出 DNA を調べた結果、タイプ A は全例より、またタイプ B は滋賀第 2 例と茨城第 1 例より検出された。タイプ C は今回の有症事例からは検出されなかった。

図、有症事例検体からのタイプ別サルコシスティス 18SrDNA 部分増幅結果



*シカサルコシスティス特異的Primer set
 1, タイプB特異的 2, タイプA特異的
 3, タイプC特異的

D. 考察

各検疫所におけるマラリアの検査方法に関しては、概ねコンセンサスが得られており、迅速診断キットを所有する検疫所が昨年より増加し改善は認められるが、所有しない検疫所も散見された。今年より導入を試みた「迅速診断キットのデモと研修者参

加型のクイズ形式トレーニング」は、大変好評なフィードバックを得ており、来年度はこれを更に発展させた「デジタル資料によるバーチャル診断」を実施する予定である。また今後、検査診断法に関する技術研修を定期的実施することで、状況の改善を試みる予定である。

感染症法に基づき届け出られるエキノコックス症は、北海道に常在する多包条虫を原因とする多包性エキノコックス症が主である。今年度の陽性 1 例は北海道居住歴を持っていたが、他の陰性例は多彩な海外渡航歴を持ち、コンサルテーション時の疑診も多包性ではなく単包性を疑うものであった。種を問わず対応可能な体制の整備は重要である。愛知県では本研究班により昨年度から新規検査法として遺伝子検査が導入された。エキノコックスの生物学的特性として糞便中の虫体由来物は間欠的に出現することから、遺伝子検査であっても偽陰性は避けがたいが、複数の検査法を組み合わせることにより監視体制が一層強化されたと考えられる。

我が国には現在 2 種の旋毛虫の分布が知られる。昨年報告したように本事例の原因種は *Trichinella* T9 で、同種は分布が国内に限定することから温度抵抗性など十分調べられてこなかった。今回の検討により再加熱による旋毛虫の不活化があったと考えられた。しかしながら再加熱品には冷凍処理も行われているため単独の影響を評価は難しい。実験室内維持されている株を用いて検討を進める必要がある。

野生シカでは一般にサルコシスティス感染率が高く (80%以上) また複数のサルコシスティス種の感染がみられる場合もある。このような背景から、シカ肉喫

食による食中毒の可能性が指摘されていたところ、2011年にシカ肉が原因と考えられる食中毒様事例（有症苦情事例）の第1例が報告された。

滋賀県の事例ではシカのサルコシスティス *S.sibllensis*、*S.wapiti* が検体より検出されているが、これらの遺伝子情報が登録されておらず、これらと今回の遺伝子検査で検出された *S.pilosa* および *S.trancata* と関係は明らかではない。本研究では複数種が重複感染しても種あるいは遺伝子型別に検出できる検査法を開発することを目的としたが、種は未確定としても、シカ肉中に複数種存在する可能性のあるサルコシスティスを種別あるいは遺伝子型別に検出することが可能であることが示された。現状では小型で数的に多い *S.pilosa* が3例の有症事例に共通して検出されており、本種と食中毒発症との関連性が示唆される。今後種あるいは遺伝子型別のサルコシスティスの定量解析を行い、これらと食中毒発症との量的関係を明らかにする必要がある。

E. 結論

マラリアの検査診断法に関する技術研修は、厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会などを利用して、定期的を実施することで、検疫所の職員に対し、検査診断法に関する技術研修と情報提供を実施する必要がある。エキノコックス症に関しては、地研および医療機関等から発生情報を積極的に収集する必要がある。このために、終宿主動物・イヌと歩哨動物・ブタの簡易な検査方法を開発・利用する必要がある。食品寄生虫（寄生虫食中毒）に関する地研とのラボネットワークの強化も、

感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題である。これには情報交換と相互研修がまず重要となる。

F. 健康危険情報：特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

国際学会：なし

国内学会

1. 木下 彩希, 相澤 悠太, 新井 真衣, 幡谷 浩史, 案浦 健, 中野 由美子, 堀越裕歩. 熱帯熱マラリア・卵型マラリアの混合感染を来したギニア人女性の1例. 日本小児科学会東京都地方会講話会. 2017年12月9日. 東京.
2. 森嶋康之, 杉山広, 山崎浩, 八木田健司, 深谷節子, 海野友梨, 綿引一裕, 佐藤要介, 武藤和弘, 板本陽. 茨城県において2016年末に発生した旋毛虫症による集団食中毒事例. 第28回日本臨床寄生虫学会大会. 6月23日, 2017年6月, 東京.
3. 八木田健司, 杉山 広, 青木佳代. 有症事例を含めたシカ肉におけるサルコシスティス感染. 第87回日本寄生虫学会大会, 3月17-18日, 2018年, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

特許取得：該当なし

実用新案登録：該当なし

その他：該当なし

