

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

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、検査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）。我が国では検査所が水際での防圧に取り組んでいることから、検査所の職員に対して、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年の埼玉県の場合に続き、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。今年度は主に住肉胞子虫に関して、和歌山県で発生したシカ肉を原因とする住肉胞子虫による有症事例について解析し、過去に起きた滋賀県および茨城県で発生した事例と比較検討した。

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、発生検知の一助としている。今年度（平成31年3月22日現在）は新規分として計61件の依頼があり、このうちエキノコックス症を疑う症例はヒト11件、動物（イヌ、ホンダギツネ、フェネックギツネ）5件の計16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、愛知県の野犬等におけるエキノコックス症流行監視では、従来の虫卵検査(MGL 変法)に加え、遺伝子検査法を導入し、虫卵検査で陰性判定された検体を再スクリーニングしたところ、昨年度、3 例の陽性例が発見された。今年度も同様に、県動物保護管理センター半田支所抑留犬等を対象に、複数の検査法を組み合わせた監視体制を継続した。

3. シカ肉内サルコシステイスの定量 PCR 解析法

有症事例で検出頻度の高かったタイプ A と B に関して、定性 PCR プライマーを利用した定量 PCR 系を構築した。PCR ケミストリーには SYBR Green を用いた。

4. 食中毒事例に関連したシカ肉のサルコシステイス遺伝子検査

検体は平成 30 年 6 月、和歌山県内でシカ肉喫食による食中毒事例として報告された事例でのシカ肉ならびに肝臓の残品で、厚生省通知法に基づき検体より DNA を抽出し検査試料とした。前年度までに構築したシカ肉サルコシステイスの遺伝子解析用 PCR 系を用いて、タイプ A および B の遺伝子型の検出を試みた。

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。

H30 年 4 月から H31 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 7 例であり、そのうち 3 件がマラリア陽性、4 件は陰性であった。陽性検体の 3 例は全て三日熱マラリア陽性例であった。また 2 件の診断に関する相談を受入れ、4 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 1 例が陽性であった。この症例は訪日外国人(イラク人)の単包性エキノコックス症で、同地での感染が考えられた。動物由来試料については北米より依頼を受けたイヌ由来 1 例が陽性で、

nad2、cob、cox1 領域を解読した結果、本来は北米には存在しないとされる欧州型ハプロタイプであった。愛知県では 2018 年 3 月から 2019 年 3 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から糞便 85 検体(内訳:イヌ 79、キツネ 3、タヌキ 3)を採取し、MGL 変法および遺伝子検査法による検査を実施したが、すべて陰性であった。

3. 有症事例シカ肉残品のサルコシステイス定量 PCR 解析

これまでシカ肉より検出されたサルコシステイスの 18SrDNA 配列解析より、形態的には小型のタイプ A (*S. pilosa* との相同性 99%) と、大型のタイプ B (エゾシカより報告のある *Sarcocystis* sp. との相同性 99%) さらに上記 2 種とは形態的に異なるタイプ C (*S. entzeroth* との相同性 97%) が識別可能な PCR 系を確立している。この PCR 系を基礎に、タイプ A および B に関して定量 PCR 系を確立した。

滋賀県内の 2 回の有症事例について解析した結果では、両事例とも小型シストを形成するタイプ A が全体量のほとんどを占めることが示され、顕微鏡下における同タイプシストの高密度な分布の所見と一致した。大型のタイプ B シストは 2011 年と 2017 年でかなり差が見られた。シスト数は両者ともかなり少ない印象であったが、シストあたりの原虫数が多いため(推定 10^5 - 10^6 プラディゾイト/シスト)シスト密度のわずかな違いが定量 PCR では大きな差として表れたものと考えられた。同時に調べた市販シカ(野生シカ)肉では、有症事例の汚染レベルに近い汚染が認められた(図 1)。

感染原虫数/g筋肉

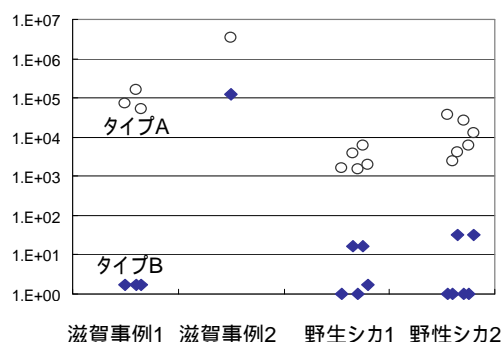


図 1. シカ肉サルコシステイスの定量 PCR 解析

4. 食中毒事例に関連したシカ肉のサルコ

システイス遺伝子検査

今回調べた和歌山県の事例では、捕獲したシカの肉とその肝臓が食されていたことから、両検体に関する遺伝子検査をおこなった。結果としては、肉試料よりタイプ A および B の遺伝子増幅が見られた一方、肝臓試料では DNA の増幅は認められなかった。

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いる。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。

今年度エキノコックス症を疑う検査依頼は 11 件あったが、そのうち 5 例が外国人または海外渡航歴を持つ邦人の単包性エキノコックス症疑い例であった。従来は北海道での曝露を想定した多包性エキノコックス症への対応で足りていたが、今後は単包性エキノコックス症を疑う例が増加することに備え、検査体制を再構築する必要がある。愛知県では、2017 年度遺伝子検査実施検体で、虫卵検査陰性の検体のうち 3 検体から遺伝子検査でエキノコックス陽性例が発見された。エキノコックスの生物学的特性により、糞便中への虫体由来物（虫卵あるいは片節）の出現は間欠的である。したがって、今年度より顕微鏡検査と遺伝子検査を同時に実施したが、このように複数の検査法を組み合わせ、検出感度を向上させることが監視体制の強化に結びつくものと考えられる。

国内に生息する野生シカにおいては高いサルコシステイス感染率（80%以上）と複数のサルコシステイス種の感染という特徴がみられる。シカ肉生食（鹿刺し）あるいは加熱不十分な調理によるシカ肉摂取は、シカのサルコシステイスの毒性評価がなされていない現状ではあるが、馬肉の食中毒リスクと同等の対応が図られるべきであることが、これまでの調査が指摘するところである。

今回の和歌山における事例でもこれまでの事例と同様にタイプ A と B のサルコシステイスが検出され、これらのサルコシステイスがシカ肉においては健康被害の原因物質となる可能性が高いことを補強する結果となった。なお本事例では肝臓の喫食との関連性が指摘されていたが、遺伝子検査で

はその関連性が示されなかった。ジビエでも肝臓の利用また流通は想定されることから、そのサルコシステイス汚染の可能性については留意しておく必要があると考えられる。

馬肉での問題と同様、シカ肉においてもサルコシステイスのリスク評価には定量的な汚染のデータが重要である。現在のところタイプ A と B の関与が想定されるので、この 2 タイプについて事例残品における定量を試みたが、検体により差があるものの、単位組織量当たりの原虫数は食中毒事例馬肉の *S. fayrei* の汚染量とほぼ同レベルなことが明らかとなった。顕微鏡を用いても確認困難な汚染は、ジビエのサルコシステイスにおける衛生管理上の難題となるであろう。加えてこのような汚染が野生シカにもみられる。安全なジビエの利用という目的には、野生シカの地域や生態によるサルコシステイス汚染の実態を把握しておくことが必要であると考えられる。

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。

シカ肉に寄生するサルコシステイスにはヒトの健康被害に関与する種類が存在し、その寄生レベルは食中毒を引き起こす可能性のあるレベルに達する可能性がある。ジビエ利用におけるサルコシステイスに関する衛生管理の徹底が必要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. 案浦健, マラリアワクチン開発の現状と展望. 日生研たより 64(4):59-64, 2018

学会発表

1. 森嶋康之. エキノコックス症. 平成30年度感染症予防指導者セミナー. 8月24日, 2018年, 名古屋.
2. 森嶋康之. 愛知県における犬のエキ

- ノコックスについて。平成30年度動物由来感染症対策技術研修会。10月30日，2018年，東京。
3. 森嶋康之，八木欣平。愛知県におけるエキノコックスについて。第12回蠕虫研究会。11月17日，2018年，熱海。
 4. 森嶋康之。動物由来寄生虫症に関する最近の話題～エキノコックス症を中心に～。平成30年度狂犬病及び動物愛護管理研修会。3月1日，2019年，津。
 5. 森嶋康之，八木欣平，杉山広，山崎浩。愛知県における多包条虫定着の可能性。第88回日本寄生虫学会大会。3月15-16日，2019年，長崎。
 6. 案浦健。「マラリアとワクチン開発；最新情報と今後の展望」。一般財団法人日本生物科学研究所第二研究会，4月26日，2018年，日本生物科学研究所。
 7. 案浦健。「マラリア概論（本邦と近隣諸国の感染状況・診断・最新情報）」。平成30年度感染症検査技術研修会，6月8日，2018年，武蔵村山。
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
該当なし