

平成28-30年度  
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 野崎智義	国立感染症研究所寄生動物部 国立感染症研究所寄生動物部	第1室長（平成29-30年度） 部長（平成28年度）
研究協力者	八木田健司 泉山信司 森嶋康之 杉山 広 中野由美子 案浦 健 長谷川晶子 海野友梨	国立感染症研究所寄生動物部 国立感染症研究所寄生動物部 国立感染症研究所寄生動物部 国立感染症研究所寄生動物部 国立感染症研究所寄生動物部 国立感染症研究所寄生動物部 愛知県衛生研究所生物学部医動物研究室 茨城県衛生研究所細菌部	主任研究官 主任研究官 主任研究官 主任研究官 主任研究官 主任研究官 主任研究員 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孢子虫に関しては、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。H28年度からH30年度にかけて毎年技術研修を行った。

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、感染症法では4類に分類され、ヒトおよび

ヒトへの感染源となるイヌの感染例について、それぞれ診断した医師もしくは獣医師に届出を義務付けている。国内土着のエキノコックスは、多包性の原因種である多包条虫であるが、これまで北海道に局限分布すると考えられてきた。しかし、2005年の埼玉県の例に続き、2014年には愛知県でイヌの感染例が発見され、全国的な拡散が懸念されている。そのため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（以下、地研と略）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、愛知県については衛生研究所へ新規に遺伝子検査法を導入し、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研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。本研究班では、国内では35年ぶりに集団食中毒事例が発生した旋毛虫症について、発生自治体である茨城県とともに検討に取り組んだ。また、滋賀県、茨城県、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の原因究明に取り組んだ。

## 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を行った。H29年度以降は研修者参加型のクイズ形式でのトレーニングを実施した。

### 2. エキノコックス症

当部では全国各地の地研または国内外の医療機関からエキノコックス症をはじめとする寄生虫症の依頼検査を受け付けている。平成28-30年度は計184件の依頼があり、このうちエキノコックス症を疑う新規の検査依頼はヒトで23件、動物(イヌ・フェネックギツネ)で12件の計35件であった。ヒト由来材料に関しては、血清を材料とするウェスタンブロット法による免疫学的検査、または組織を材料とする遺伝子検査を行った。動物の疑い例の場合は、糞便または組織を材料として虫卵検査や遺伝子検査を適宜実施した。また、2014年にイヌの感染例が報告され、定着が懸念される愛知県においては、衛研が実施しているエキノコッ

クス調査に糞便内DNAを標的とした検査法を新規に導入し、監視体制の強化を図った。

### 3. 旋毛虫症

旋毛虫症は極めて重要な人獣共通食品媒介寄生蠕虫症であるが、我が国では欧米で多いブタ肉を介した感染はなく、野生獣肉(クマ肉)を介した集団感染事例が合計3度発生している。2016年12月、茨城県内の飲食店にて提供されたヒグマ肉を原因食品とする旋毛虫症が発生した。これは国内では35年ぶりとなる集団感染事例であった。本研究では、原因食品からの病原体検出を試み、原因種の特定を行った。また、原因食品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事例と異なり、本事例は原因食品に冷凍のほか、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. 住肉胞子虫

滋賀県における2回の有症事例(2011および2017年)、茨城県における有症事例(2017年)および和歌山県における食中毒事例(2018年)より、事例に関わる残品(シカ肉あるいは肝臓)を検体として、厚労省の通知法に基づくDNA抽出を行い、DNA試料を調整した。

市販シカ肉(エゾシカおよびホンシュウジカ)より形態的に異なるサルコシストを単離し、個別にDNAを抽出し、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、遺伝子型との相同性を調べ、シカ感染サルコシステイス特異的プライマーを設計し、これを用いた定性および定量 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、検疫所職員が毎年 20 名前後の参加があった。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。

H28 年 4 月から H31 年 2 月末までの 2 年 11 ヶ月の間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 15 例であり、そのうち 10 件がマラリア陽性、5 件は陰性であった。陽性検体の 10 例は 8 件が三日熱マラリア陽性、1 件は卵型マラリア陽性、1 件は熱帯熱マラリアと卵型マラリアの混合感染例であった。また 12 件の診断に関する相談を受入れ、14 箇所の地方衛生研究所 / 検疫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

ヒト疑診例の陽性例は、血清 2 例と組織材料 1 例であった。血清陽性例は外国人(ペルー人およびイラク人)の単包性エキノコックス症、組織陽性例は北海道居住歴がある日本人の多包性エキノコックス症で、いずれも流行地での感染が考えられた。なお、北海道の症例は遺伝子検査確定後、血清の提供を受け免疫学的検査を追加実施したが、抗体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 2 例が多包条虫陽性であった。動物はともに北米産イヌで、1 例は

成虫ではなく幼虫の感染例であった。愛知県では 2015 年 10 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に由来する糞便 265 検体(内訳:イヌ 249、キツネ 12、タヌキ 4)について従来の MGL 変法による虫卵検査のほか、新規導入した遺伝子検査を行ったところ、虫卵検査で陰性判定された 3 検体から遺伝子陽性が得られ、ダイレクトシーケンスの結果、3 検体ともに塩基配列は多包条虫と一致した。

### 3. 旋毛虫症

茨城衛研から提供された原因食品(ヒグマ肉)を人工消化法により処理したところ、スティコソーム構造を持つ線虫幼虫が回収され、遺伝子解析の結果、旋毛虫の一種である *Trichinella* T9 と同定された。我が国で発生した旋毛虫症例で初めて原因種が分子同定された事例となった。旋毛虫類では *T. spiralis* の温度抵抗性は十分調べられているが、本事例の *Trichinella* T9 は分布が日本国内に限定することから温度抵抗性などは十分調べられていない。そこで冷凍や加熱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り、処理による不活化の可能性が示された。今後、各処理の影響を単独で評価するため、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。

### 4. 住肉胞子虫

市販エゾシカ肉から 2 つのサルコシストのタイプを明らかにした。小型のタイプ A(図 1)はホンシュウジカで報告のある *S. pilosa*(99%) と、一方大型のタイプ B(図

2)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。またホンシュウジカからエゾシカのタイプとは異なるタイプ C が見られ、これ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。

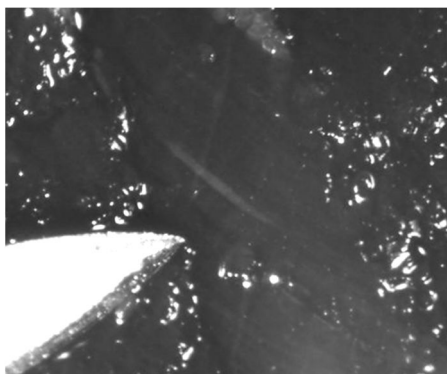


図 1、シカ肉中のタイプ A のサルコシスト

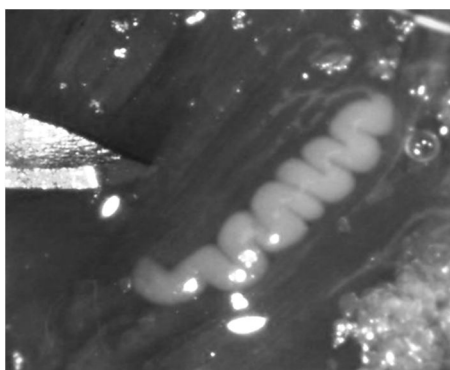


図 2、シカ肉中のタイプ B のサルコシスト

タイプ特異的 PCR プライマーを用いた PCR 系を構築し、有症/食中毒事例のシカ肉等抽出 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、和歌山第 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 (表 1)。

表 1、有症/食中毒事例で検出されたサルコシスティスの遺伝子型タイプ

報告年	報告地	遺伝子型タイプ
2011	滋賀県	A
2015	滋賀県	A、B

2017	茨城県	A、B
2018	和歌山県	A、B

滋賀県内の 2 回の有症事例について定量 PCR 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 3)。

感染原虫数/g筋肉

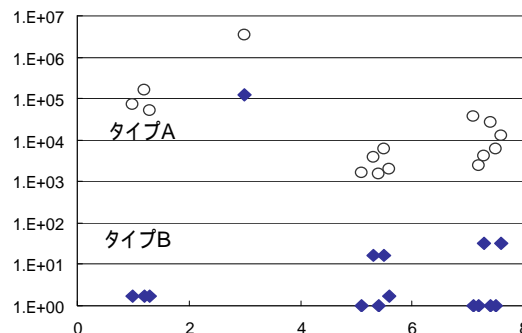


図 3、シカ肉サルコシスティスの定量 PCR 解析

#### 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講習を重ねる毎に増加し、改善は認められるが、所有しない検疫所も散見された。H29 年度より導入を試みた「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、今後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。

国内で発生す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。しかし期間中、我々が依頼を受けたヒトのエキノコックス症疑い例 23 件の国籍をみると、外国 4 件(アメリカ・イラク・ネパール・ペルー各 1、インド 2)は単包性エキノコックス症を疑い、さらに日本人疑診例でも渡航歴から単包性エキノコックス症を疑う症例が 5 例含まれた。日本人の海外渡航一般化に加え、訪日外国人も増加の一方であることから、多包性エキノコックス症だけでなく、単包性エキノコックス症にも対応可能な体制を整備する必要がある。愛知県では新規に遺伝子検査を導入し、監視体制の強化を図ったところ、2017 年度遺伝子検査実施検体で、顕微鏡検査で陰性であった検体から 3 検体のエキノコックス陽性が発見された。これは、直ちに遺伝子検査の方が顕微鏡検査よりも検出感度が高いことを示すものではないが、複数の検査法を組み合わせることにより検出感度は向上しており、本研究の目的である「検出方法の構築ならびに改良」は達せられたと考えられる。2017 年度の成果に基づき、2018 年度からは虫卵検査と遺伝子検査を同時に実施することとし、監視体制の強化を図った。

35 年ぶりの国内発生となった旋毛虫症では、原因種は *Trichinella* T9 と分子同定された。本種は我が国固有種であるが、これまでの感染事例で分子同定が行われたことがなく、人体感染例のあることが初めて明らかにされた。昨今のジビエブームにより

野生獣肉を介した食中毒事例の発生の可能性は高まっているが、残念ながら食品寄生虫に関する情報は、その検査法も含め、周知されているとは言い難い。したがって野生獣肉を介した寄生性食中毒の発生予防に関する啓発活動に全国レベルで至急に取り組む必要がある。このような食品寄生虫に関する地研とのラボネットワークの強化は、感染研と地方衛研とが共同して継続的に取り組むべき重要課題である。

2011 年より報告が始まったシカ肉寄生のサルコシスティスによる有症事例および食中毒事例におけるサルコシスティスの遺伝子解析により、有症あるいは食中毒事例と原因種との関係を調べた。シカでは感染率の高さに加え、複数種の重複感染が認められることから、本研究では明確な形態差に基づくサルコシストの単離を行い、少なくとも 3 つの種類(遺伝子型)を区別できる遺伝子解析法を確立した。これにより当該の遺伝子型に関しては、シカ個体の感染率やシカ肉内の感染量の推定が可能になった。

事例に関与するシカのサルコシスティスに関しては、現状でタイプ A や B が健康被害に関与することが明らかとなり、その汚染レベルも定量的にみて馬肉の *S. fayeri* の食中毒レベルに相当するものであることが分かった。野生の個体中にも食中毒レベルに近い汚染が認められることから、ジビエとして野生シカ肉を利用するにあたっては、加熱あるいは冷凍によるサルコシスティス不活化を徹底する必要がある。ジビエの活用には安全性の確保が最重要課題である。今後のシカ肉の安全な利用という意味で、サルコシスティスの種類や遺伝子型ならびにその感染量データを地研と共有し、シカ肉による食中毒のリスク管理につなげる。

## 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。

シカ肉のサルコシスティスはヒトの健康被害の現員となり得ることが有症事例また食中毒事例で示唆されている。その寄生率と寄生量のレベルの高さは、シカ肉のリスクを高める要因となっていると考える必要があり、ジビエ利用におけるサルコシスティ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

「愛知県知多半島の犬におけるエキノコックス(多包条虫)感染事例について(情報提供)」.平成30年3月28日・厚生労働省健康局結核感染症課・事務連絡.

## 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. 案浦健. 「マラリア概論(本邦と近隣諸

国の感染状況・診断・最新のワクチン情報)」.平成28年度感染症検査技術研修会, 6月10日, 2016年, 武蔵村山.

2. 案浦健. 「マラリア原虫弱毒生ワクチン開発の現状と展望」バイオロジクスフォーラム 第14回学術集会. 1月12日, 2017年. 東京
3. 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29年度感染症検査技術研修会, 6月2日, 2017年, 武蔵村山.
4. 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.
5. 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.
6. 森嶋康之, 八木欣平, 登丸優子, 山崎浩, 杉山広, 福本真一郎, 吉川泰弘. 愛知県における野犬のエキノコックス陽性例の再検出. 第76回日本寄生虫学会東日本支部大会. 10月18日, 2016年, 東京.
7. 森嶋康之, 杉山広, 山崎浩, 八木欣平. エキノコックス(多包条虫)流行地拡大におけるイヌの役割. 第10回蠕虫研究会. 11月18日, 2016年, 熱海.
8. 森嶋康之, 杉山広, 山崎浩, 八木田健司, 佐藤要介, 綿引一裕, 土井幹雄, 坂本陽, 武藤和広, 本多めぐみ, 海野友梨, 深谷節子, 小林雅枝. 2016年に発生した旋毛虫による集団食中毒事例について. 第86回日本寄生虫学会大会. 5月28-29日, 2017年, 札幌.
9. 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, 坂本陽. 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, 東京.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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イス感染. 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。 )
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし