

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
	森嶋康之	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	室長

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、第五類に分類されるアメーバ赤痢について、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。マラリアについては、これまでに検疫所・検疫官らから問い合わせの多かった原虫種の同定方法の改善・最適化の作業に取り組んだ。エキノコックスについては、定着が懸念される知多半島における調査を継続した。アメーバ赤痢に関しては、地方衛生研究所と連携して、抗体検査の有用性を改めて検討した。

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情報提供が必要と考えられた。今年度は、これまでに検疫所・検疫官らから問い合わせのあった原虫種の同定方法の改善・最適化の作業に取り組んだ。

エキノコックス症は北海道に限局流行してきたが、愛知県では2014年に野犬の陽性例が発見されて以降、知多半島内での陽性検出地点が拡大し、半島外への拡散も懸念される事態に至った。そこで調査対象地域を拡大し、半島外への流行拡散を監視した。

2018年以降アメーバ赤痢に対する抗体

検査キットが販売中止となり、事実上検査が不可能となった。そこで本研究グループでは、in house ELISA 抗体検査法の地方衛生研究所（以下、地研と略）等への技術移転や検査受け入れを積極的に進めている。本年度は抗体検査の有用性を改めて検討した。

B. 研究方法

1. マラリア

これまでに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から「ハマダラカからのマラリア原虫の検出・原虫種同定方法の改善」に関して希望が出ており、その改善を実施した。ハマダラカへのマラリア原虫感染モデルとして、ネズミマラリア原虫感染ハマダラカを用いて、ヒトマラリア原虫感染赤血球からの検出するPCR手法を改変・最適化を行ない検出を試みた。

2. エキノコックス症

検査材料は、令和2年4月1日～令和3年3月末までに愛知県動物保護管理センター知多支所および本所の知多半島隣接地域で捕獲・搬入された野犬等から採取された糞便検体を用いた（犬：知多支所69、本所52、キツネ：知多支所1）。これらは、令和2年4月1日～令和3年3月31日の期間に愛知県動物愛護センター知多支所および本所の知多半島隣接地域で捕獲され、当所に搬入された野犬等から採取された糞便122検体（野犬：121、キツネ：1）。

遺伝子検査はDNeasy PowerSoil Kitを用いてDNA抽出後、12S rRNA領域を標的的部位としてPCR法によるエキノコックス遺伝子の検出を試みた。虫卵検査はホルマリン酢酸エチル法（MGL変法）により実施した。

3. アメーバ赤痢

国内の医療機関及び保健所、地方衛生研空所（地研）からのアメーバ赤痢依頼検査検体（便、血清ならびに肝組織）をレファレンスとして保管し、これらを利用してアメーバ赤痢抗体検査法の評価に関する研究を行った。またこれらのレファレンスならびに検査法を地研等に技術供与した。

C. 研究結果

1. マラリア

ハマダラカからの原虫 DNA 抽出方法の最適化、PCR の温度設定などの最適化を行い、指摘条件を得ることができた。また感染原虫の数に応じて、半定量的に検出できること、また原虫数に応じて検出限界の目安も得ることができた。

例年複数件依頼があるマラリアなどの輸入寄生虫疾患に関する鑑別診断依頼ならびに相談は、令和2年4月から令和3年3月末までは依頼がなかった。コロナ渦の影響で、海外への渡航の停止と外国人の受け入れ制限を反映していると考えられた。

2. エキノコックス症

遺伝子検査において4検体でエキノコックス陽性であった（4/122）。虫卵検査では全検体陰性であった（0/122）。陽性4検体は動物愛護センター知多支所管内で捕獲された野犬で、詳細（捕獲年月・捕獲地・性・齢）は次の通りである。（1）令和2年4月・半田市平和町・オス・推定2ヶ月、（2）

令和2年4月・常滑市金山・メス・推定3ヶ月、（3）令和3年2月・常滑市金山・メス・推定2ヶ月、（4）令和3年2月・半田市宝来町・メス・推定2歳。

3. アメーバ赤痢

In house で確立している抗赤痢アメーバ IgG 抗体の ELISA 検査系を用いて、遺伝子検査の結果が得られているアメーバ肝膿瘍症例の血清抗赤痢アメーバ IgG を調べた。定性 PCR 検査陽性 18 例、同陰性 10 例の計 28 例について解析した結果、感度は 94.4%、特異度は 90.0%であった（表参照）。

保管している検体に関しては地研等への検査用陽性試料として分与を行うほか、in-house ELISA 抗体検査法の技術移転も進めている（大阪健康安全基盤研究所への供与）。

	PCR 陽性	PCR 陰性	合計
抗体 陽性	17	1	18
抗体 陰性	1	9	10
合計	18	10	28

D. 考察

ハマダラカからのマラリア原虫の検出・原虫種同定方法の改善に関しては、これまでに検疫官などからリクエストを受けており、その要望に応えるために既存方法の改善をモデル病原体であるネズミマラリア原虫感染ハマダラカを用いることで実施することができた。今後、よりヒトマラリア原虫に近いとされる、サルマラリア原虫などを感染させてハマダラカを用いた試験を実施することでより精度の高い最適化を試みる。また今後これらの得られた結果を、技術研修会が再開した際には、検疫官などに詳細な情報提供を試みる。

知多半島内の半田市および常滑市において計4件のエキノコックス陽性犬が発見され、知多半島内のエキノコックスの定着は確実な状況であると考えられた。平成31年度より調査範囲を知多半島全域に加え知多半島隣接地域まで拡大しているが、拡大した調査地域では陽性犬は発見されなかった。今後も調査の継続が必要であると共に積極的な拡散防止策を検討する必要があると考えられた。

他の感染症と同様、アメーバ赤痢においてもその血清抗体は現在の感染を必ずしも意味しないとされる。この点に関して本研究では、侵襲性の強いアメーバ肝膿瘍においては、血清抗体は原虫の感染

と高く相関することが示され、また検査・治療のための膿瘍穿刺等の処置は細菌感染等のリスクの関係で行われない場合も多いことを考慮すると、低侵襲性の血清抗体検査は、アメーバ肝膿瘍症例においては有用性の高い方法と考えられた。有用な抗体検査ではあるが、現在国内での保険適用の抗体検査が不可能な状況にあり、感染研および地研での検査対応が求められているところで、検査法自体を含む技術供与、検査協力の体制が重要である。

E. 結論

マラリアの検査診断法は、ヒト感染血液を用いた場合の診断と、感染ハマダラカからの検出では大きく異なり、最適化が必要とされる。またこれらの情報は検疫所などでの業務において非常に有益であり、今後、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、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。

エキノコックスに関しては、知多半島内での陽性検出が定着しつつあり、半島外への拡散も懸念される事態に至っているため、積極的な拡散防止策を講ずる必要があると思われる。

アメーバ肝膿瘍症例においては、血清抗赤痢アメーバ検査の有用性は高いものと考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

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