

プログラム1

浜名湖沿岸の巻貝類に寄生する吸虫類 — 寄生状況とレジアの捕食による種間競争

○原田正和¹、記野秀人²、新井明治¹

¹香川大・医・国際医動物学、²浜松医大・動物実験

吸虫類は2つの中間宿主を必要とするものが多く、寄生虫学の大きな命題であるhost-parasite relationshipに関わる宿主選択と宿主特異性、種間競争の研究にとって恰好の材料である。宿主特異性に関して、同所的に共存する2種の巻貝類においても、一方の種だけに吸虫類感染が見られる事もあるが、その宿主選択と特異性のメカニズムはいまだ完全に解明されているとは言い難い。

また、第一中間宿主となる貝類の個体内には2種以上の種が重複感染している場合より、1種類の吸虫しか見られない場合が多い。これは種間競争のためと考えられ、組織切片での観察により、レジアによる他種の捕食が想定されていたが、それ以上の直接的証拠はこれまで見つかっていない。

今回演者らは巻貝類相と吸虫類の研究の過程で、レジアによる捕食を観察したのでその様子を、浜名湖の巻貝類の寄生状況、セルカリアの形態学的特徴と合わせて報告する。

プログラム2

タイ肝吸虫の感染による胆管癌における galectin 遺伝子の発現

○呉 志良、Sirintip Boonjaraspinyo、Thidurat Boonmars、長野 功、浅野一信、高橋優三

岐阜大院・医・寄生虫

タイ肝吸虫(*Opisthorchis viverrini*)は東南アジアに広く分布しており、その感染者は 3500 万人と推測される。また、この地域は世界で最も高い胆管癌の発生率で知られている。このタイ肝吸虫の感染と胆管癌の関連は、動物実験や疫学調査で明らかにされたが、その発癌の機序は不明である。我々は①感染による発癌のメカニズムを解明するため、及び②診断用の biomarker の検索するために、cDNA microarray を用いて発現遺伝子の検索を進めている。その結果 galectin について興味深い結果を得たので報告する。一般に galectin 蛋白は細胞の分化、接着、増殖、血管新生、アポトーシスを制御する因子であり、発癌の関与及び癌の浸潤・転移に深く関わる重要なキー蛋白として知られている。具体的には、感染による胆管癌の発癌モデルにおける galectin-1, 3 及び 9 の発現動態、及び流行地の胆管癌患者（78 例）における発現を同様に検討した。発癌動物モデルにおいては、galectin-1 の発現は感染後（1, 2, 3, 6 ヶ月）に、著しく上昇した（それぞれ 7、20、16、26 倍）。胆管癌の患者においても同様に上昇した。すなわち癌組織における発現を同一患者の正常実質部分をコントロールに比較してみると、癌組織における発現が 3 倍以上（3~214 倍）になった患者は 53 例（68%）であった。galectin-3 及び 9 の発現も、発癌動物モデルで感染後に高くなったが、その発現の経時変化は galectin-1 とは、若干異なった。また患者の癌組織においては、galectin-3 と galectin-9 発現が 3 倍以上（3~518 倍）に上昇した例は、それぞれ 69 例（88%）と 56 例（72%）であった。以上の結果は galectin-1, 3 及び 9 は肝吸虫の感染による発癌に関与していることを示唆する。また、これら gene は、感染による胆管癌の診断用の biomarker、及び遺伝子治療用の target となる可能性がある。

プログラム 3

New genotype of *Paragonimus westermani* in India with close genetic similarity to forms from NE Asia

○Kangjam. Rekha Devi ^{1,2}, Kanwar Narain¹, Jagadesh Mahanta¹, Tulika Nirmolia¹, David Blair³, Takashi Agatsuma²

¹ Regional Medical Research Centre, N.E. Region (Indian Council of Medical Research), Post box# 105, Dibrugarh 786001, Assam, India

² Department of Environmental Health Science, Kochi Medical School, Nankoku city, Kochi 783-8505, Japan

³ School of Marine and Tropical Biology, James Cook University, Townsville, Queensland 4811, Australia

Paragonimus westermani (Kerbert, 1878) is a well known lung fluke of medical and veterinary importance and constituting a species complex distributed widely in Asia from Sri Lanka and India to northeastern China and Japan, and south to at least the Philippines and Indonesia. However, there are still several unresolved questions regarding taxonomy and phylogeography of the species. Populations of this parasite from different regions of Asia often differ markedly in their biological properties and in molecular sequences. One variety, distinct in molecular sequence and other properties, was recently reported from northeastern India. Phylogenetic studies indicate that this variety lies quite close to the base of the *P. westermani* complex. Now we have discovered metacercariae of a second genotype of *P. westermani* in freshwater geocarcinucid crabs from two localities of northeastern India. The metacercariae are spherical in shape, thus differing from the oval metacercariae of the previously discovered form. Phylogenetic analysis suggests that the novel genotype is closely related to forms of *P. westermani* from NE Asia (Japan, Korea, China), forms that are relatively derived in phylogenetic trees and possess spherical metacercariae. The occurrence of genetically distinct lineages of sympatric *P. westermani*-like lung flukes in northeastern India indicates that *P. westermani* in India may comprise of more than one species, one relatively basal within the species complex and one derived. This discovery throws serious doubt on previous biogeographical scenarios.

プログラム 4

大複殖門条虫 13 症例の遺伝子解析

○山田 稔¹、大西弘太郎¹、手越達也¹、有菌直樹¹、及川陽三郎²、太田典子³、竹田由加里³

¹京府医大・院・寄生病態学、²金沢医大・医動物学、³厚生連高岡病院・臨床検査部

いままで検討した 10 例の大複殖門条虫成虫の DNA の塩基配列解析結果は個体間に種内変異がほとんどないことを示唆していた。今回さらに大複殖門条虫症 4 例を遺伝子解析のために同定依頼された。このうち 1 例はすでに症例として学会報告済みである。今回紹介された 4 例（1 例が未熟、3 例が成熟体節）のうち 3 例（未熟 1、成熟 2）の排出虫体について遺伝子解析を実施できたのでいままでの 10 症例（未熟 6、成熟 4）と併せて 13 症例（未熟 7、成熟 6）について比較検討した。13 症例全てで COX1 領域が増幅され、増幅産物の塩基配列解析の結果、520bp 中 1 塩基のみが異なっていた。一方 ND3 領域が増幅された 7 症例では 475bp 全てが完全一致していた。他方 ITS1 領域が増幅された 9 症例では 665bp 中 1 塩基のみが異なっていた。このように生殖器の未熟、成熟にかかわらず、この大複殖門条虫で遺伝子解析の結果、種内変異がほとんどなかったことは興味深い。

プログラム 5

小形条虫虫卵に対する再感染防御機構

○大西弘太郎¹、浅野和仁²、有菌直樹¹¹京都府医大・寄生病態学、²昭和大・保健医療・作業療法・生理学

【背景・目的】マウスにおいて小形条虫(*V. nana*)の虫卵を経口的に感染させると、その虫卵による再感染は完全に防御される。この再感染防御は、再感染虫体である六鉤幼虫がマウス小腸組織内に侵入した後、擬嚢尾虫に発育することが宿主により阻害されることによる、と考えられている。今回我々は、*V. nana*の虫卵によって強力に獲得される再感染防御において、初感染から再感染までの期間を変更することにより六鉤幼虫の宿主組織への侵入がどのように変化するかを検討した。

【材料・方法】1000個の*V. nana*虫卵を経口感染させた。初感染から1,2,3,4週後に10000個の同虫卵で再感染を行った。初感染後と再感染後のマウスから小腸を経時的に採取し、同粘膜からDNAを抽出し、*V. nana* 18S rDNA, ITS1をreal time PCR法によって増幅し、六鉤幼虫の感染動態を評価した。

【結果・考察】初感染1週後に再感染させたマウスの小腸からは増幅産物が認められなかった。一方、初感染から3,4週後に再感染させて数時間後のマウスでは、初感染から数時間後のマウスとほぼ同程度の増幅が認められた。以上の結果より、*V. nana*虫卵に対する再感染防御は、初感染から再感染までの期間が短い場合では六鉤幼虫の小腸内への侵入阻止による、初感染から再感染までの期間が長い場合では小腸内に侵入した六鉤幼虫の発育阻止による、ということが示唆された。

Mechanism of host resistance to re-infection with *Vampirolepis nana oncosphere*.

Kotaro Onishi¹, Kazuhito Asano², Naoki Arizono¹

¹Dept. of Med. Zool., Kyoto Pref. Univ. Med., ²Div. of physiol., Dept. of Occup. Therapy., Sch. of Nurs. and Rehab. Sci., Showa Univ.

プログラム 6

旋毛虫のES産物について

○高橋優三、呉 志良、浅野一信、長野 功
岐阜大院・医・寄生虫

寄生虫のwet lab研究でES産物に注目が集まって久しい。その抗原性の強さと特異性ゆえに免疫診断用の抗原として汎用されている。旋毛虫に関しても同様であるが、旋毛虫のES産物場合には、宿主の筋肉細胞に直接注入されてナース細胞形成に至る変異のきっかけとなる意味で、その生理活性の意義は大きい。また旋毛虫感染の宿主では、自己免疫性の脊髄炎発症の抑制や血糖値の改善など、興味深い全身への影響も見られる。

われわれは旋毛虫のES産物の起源とその生理作用求めるべく、旋毛虫（成虫、筋肉幼虫、新生幼虫）の超微細形態の探索、ES産物の蛋白化学的分析(二次元電気泳動後のwestern blot)、組み換え蛋白として合成、などを行ってきた。

その結果、筋肉幼虫のES産物は、食道腺の分泌顆粒がcanalicular treeや食道を経て体外へ放出される。放出後については、①虫体の表面に付着する、②ナース細胞によりcystの両極の部分から外へ放出され、宿主の全身に作用する、③感染筋肉細胞やナース細胞の機能に直接作用する、などの運命が明らかとなった。このES産物は、分子量と等電点、抗原性が異なる多くの蛋白質から成る。cDNAライブラリーを構築、抗ES産物抗体でスクリーニングしてクローニングをした結果、いくつかの機能蛋白が合成できた。そのうちのひとつは、macrophage inhibition factorであり、実際にin vivoでの作用が確認できた。そのほか、ES産物の中にはserine protease、serine protease inhibitor、DNaseなどが含まれるものと考えられる。

教育講演 1

プログラム 7

トコジラミ被害の現状と駆除の難しさ

○渡辺 護

感染研・昆虫医科学

トコジラミ被害の現状：トコジラミによる吸血被害は 1964 年の東京オリンピックを境に、急速に減少した様に思われ、1970 年代中頃にはトコジラミに遭遇することはほとんど無くなり、21 世紀を迎える頃には過去の衛生害虫と考えられていた。ところが、21 世紀に入った途端、吸血被害が散発する様になり、ここ 1, 2 年で北海道から沖縄まで全国に拡大した。このトコジラミの復活 (resurgence) はアメリカを筆頭に世界各地でも見られ、現在、国際的な問題になっている。

被害が一般家庭でよりも、宿泊施設で先行している状況から、海外からの旅行者がいわゆる‘旅行カバン伝播’を行ったことが強く示唆され、冬季閉鎖される山岳ホテルでの被害事例がそれを裏付けていると思われる。さらに、海外ボランティアが持ち帰った事例を経験している。海外からの持ち込みが疑われる背景には、アメリカをはじめ、世界各地での被害例がインターネット上を賑わしていることが挙げられる。おそらく、1990 年頃からの殺虫剤の利用状況が、世界各国において大きく変化したことが要因の一つと考えられる。つまり、有機塩素系殺虫剤の使用・製造の中止に始まり、低毒性殺虫剤への変換、ピレスロイド剤の多用、さらには殺虫剤の使用減少、加えて、世界的な旅行ブームがトコジラミの復活に寄与したと思われる。しかし、国内で生き残っていたトコジラミが、最近の減殺虫剤の生活様式や大掃除の衰退で、復活を促した可能性も否定出来ない。また、病原微生物を媒介しないと断定され、アタマジラミの様に社会問題にもならず、見過ごされて来たことも考えられる。

トコジラミの駆除の難しさ：トコジラミは殺虫剤全般に対して、ゴキブリに比べ感受性が低いことが知られていたが、それが一般に周知されることも無く、被害が続出することとなった。更に、悪い事に手軽に利用できる市販のピレスロイド剤の燻煙剤、蒸散剤、噴射剤が多用されたこと。しかし、それらでは駆除が出来ない現実と直面し、解決（駆除）が伸びる、または出来ないことが明らかになって来た。害虫駆除会社も室内での作業が容易な ULV（高濃度液剤の少量噴霧）を行う場合が多いが、それにはピレスロイド剤が用いられ、駆除に失敗する。その原因の一つは、トコジラミはもともとピレスロイド剤に低感受性であること。第二の原因として、ピレスロイド剤に対して抵抗性であること。とくに、ULV に多用されるフェノトリン、ペルメトリンに対しては全く駆除効果が期待出来ない。

現時点で駆除効果が望める殺虫剤は、抵抗性が多少認められるが有機リン系のジ

クロルボスやフェニトロチオン、さらにカーバメイト系のプロポクスルと思われる。ただ、トコジラミは思い掛けない場所にも潜んでいる場合があり、それを見逃しての殺虫剤処理を行い、数日間様子を見て安全宣言を出し、再び宿泊者に吸血被害が起こり、問題となる。十分に部屋内の生息調査を行い、如何にしてトコジラミに殺虫剤を触れさせるかを考え、殺虫剤の散布方法を工夫する必要がある。なお、トコジラミは40℃以上の熱に曝されることで比較的容易に死ぬので、熱風、蒸気の利用も考えたい。徹底的な薬剤散布が出来ない、殺虫剤を使いたくない集合住宅などの一般家庭での利用が考えられる。

プログラム8

和歌山県のイノシシに高率に寄生が認められた*Babesia gibsoni* に近縁の
*Babesia*属原虫○河合敦子¹、佐藤江利子²、大森志保¹、西原力²、鈴木和男³、斎藤あつ子^{1,4}¹兵庫医療大学薬学部微生物学分野、²同上衛生薬学分野、³田辺市ふるさと自然公園
センター、⁴神戸大学大学院医学研究科原虫・寄生虫学分野

マダニ媒介性、赤血球内寄生性のピロプラズマ目バベシア科バベシア属原虫は、多種の動物に認められる。しかし、人獣共通感染症を起こすのは、ネズミ寄生種 *Babesia microti*、ウシ寄生種 *Babesia divergens* と近縁の原虫、およびWA1/CA1 型原虫にほぼ限られている。ところが、最近、*B. microti* に近縁の原虫が、イヌやアライグマから見つかり、また、*B. divergens* に遺伝子レベルでは非常に近縁の原虫がウサギからみつかるなどの新知見が集積されてきている。このため、遺伝子レベルの解析を基に、種々の動物に寄生するバベシア原虫について、早急に比較解析を行う必要性がある。

私たちは、平成20年11月～平成21年10月の間に、和歌山県田辺市とその近隣地域で捕獲された、イノシシ21匹について、血液塗抹標本の観察およびPCRで原虫 small subunit ribosomal RNA gene (SSUrDNA) の一部を増幅し、直接塩基配列を決定することによりバベシア属原虫の寄生の有無について検査を行った。21匹中18匹について血液塗抹標本が観察され、12匹にバベシア様の赤血球内原虫の寄生を認めた。内、4匹のイノシシについて、バベシア原虫のSSUrDNAの一部と思われる遺伝子の塩基配列が確認され、これらの塩基配列は互いに完全に一致した。2匹のイノシシのバベシア原虫については、ほぼ全長のSSUrDNAの塩基配列を決定したところ、両者は同一で、これまでに報告のあるバベシア原虫とは若干異なるバベシア原虫であると考えられ、分子系統学的解析から、*Babesia gibsoni* に最も近縁の原虫であることが示された。そこで、この原虫に特異的なPCR primers を作成し、PCRを行ったところ、21匹中17匹が陽性を示し、本原虫が、非常に高率に和歌山県のイノシシに寄生していることが明らかにされた。

プログラム9

Trichomonas foetus の市販培養液を用いた培養法の開発

○藪 義貞 真田祥太郎 岡田則子
名古屋市立大学・医・免疫学

Trichomonas foetus は牛の流産の原因になることから家畜伝染病予防法で届出伝染病に指定されている家畜感染症の病原体である。本原虫の培養法は Diamond によって報告された古典的な TYM medium (1957) がある。しかし、原材料が天然物由来のために製造会社やロットが変わると増殖が不安定になる欠点がある。また、TYM medium では宿主細胞は培養できないため原虫と宿主細胞との相互作用の解析には使用できない。今回、市販の培養液の中から培養液を選び原虫と宿主細胞共に培養可能な培養法の検討をおこなった。

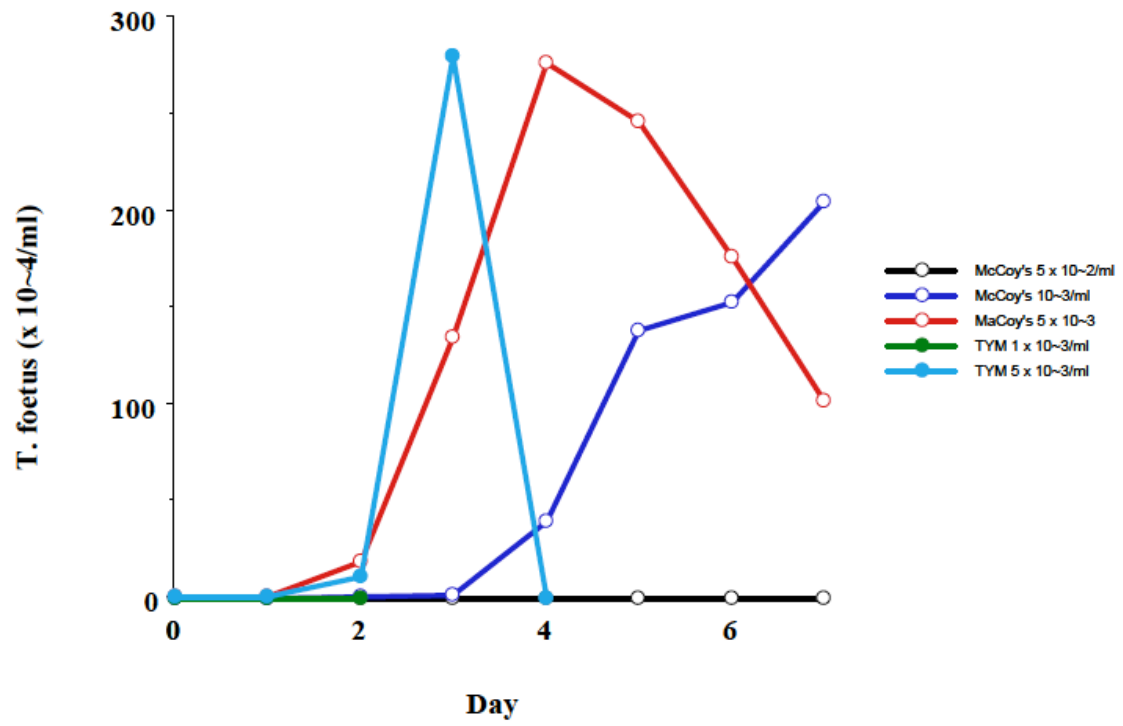
材料と方法

市販の培養液から MEM, IMDM, DMEM/F12, MCDB131, M199, McCoy's 5A を選び各培養液に牛胎児血清を10%(v/v) 加え培養液として用いた。培養液は密栓つき小試験管に5ml 入れ、原虫を加え 37℃で培養し、24 時間毎に生原虫数を調べた。

結果

検討した市販の培養液の中で M199 と McCoy's 5A medium に原虫の良好な増殖が見られた。特にMcCoy's 5A medium で3, 4 日目にM199 と比較して原虫の増殖性がみられた。TYM medium に原虫を $1 \times 10^4/\text{ml}$ 加え 37℃で培養すると培養開始2 日目に原虫数は最大値を示し、3 日目にはほとんどの原虫は死滅する。しかし、McCoy's 5A mediumでは培養開始後3 日目に原虫数の最大値を示しその後徐々に原虫数の減少がみられた。また、原虫数を $5 \times 10^2/\text{ml}$ から $5 \times 10^3/\text{ml}$ にして培養すると原虫の増殖は図1の様になり McCoy's 5A medium が *Trichomonas foetus* の培養に最適なことが証明された。

Growth of *Trichomonas foetus*



プログラム10

熱帯熱マラリア原虫からの生化学的解析を目的としたミトコンドリア調製法の確立

○畑 昌幸¹、佐藤恵春²、北 潔¹

¹ 東京大・医・生物医化学、²Division of Parasitology, National Institute for Medical Research, London, UK

マラリアは毎年多くの死者を出す感染症であるが、クロロキン等に対する薬剤耐性株が広まっており、有効なワクチンもないことから、新規薬剤の開発が重要である。我々は熱帯熱マラリア原虫の2つの特殊なオルガネラ、ミトコンドリアとアピコプラストの代謝およびそれらの相互作用について、生物学的な興味と薬剤標的としての観点から解析を進めている。両オルガネラの生理機能については未だ不明な点が多かったが、最近になって興味深い結果が報告がされるようになって来た。

生化学的、分子細胞生物学的な解析をするために、実験によっては高純度のサンプルを得る必要があるが、今まで得られたオルガネラ画分は純度、量ともに低く、多量のヘモゾイン等の混入によって生化学的な解析を妨害する場合があった。またオルガネラ間に物理的な相互作用があることが示唆され、ミトコンドリアとアピコプラストの分離は困難とされてきた。そこで我々は、当研究室で過去に確立されたN₂ cavitation 法と Percoll 密度勾配遠心分離法の改良を試みた。核DNA由来と思われる凝集の除去や、細胞骨格の阻害剤による処理により、ヘモゾインを含む食胞を取り除くことによって、ミトコンドリアとアピコプラストを部分的に精製することが可能となった。ミトコンドリアの純度の指標としてジヒドロオロト酸還元酵素の比活性は約 60 nmol/min/mg と、他の報告に比べて約 4-5 倍高い値を示した。

本大会では回収率や分離結果について報告し、両オルガネラの分離によって可能になった実験および今後の展望について考察したい。

Strongyloides venezuelensis の感染防御における好酸球と好塩基球の役割について

○松本真琴¹、安田好文¹、久保允人²、善本知広³、中西憲司¹

¹兵庫医大・免疫学医動物学、²理研・免疫アレルギー研・シグナルネットワーク、³兵庫医大・先端研・アレルギー疾患研究部門

Strongyloides venezuelensis の感染防御における好酸球および好塩基球の役割については以前から報告されてきたが、その詳細については不明な点が多い。私たちは、二つのマウスモデルを検討することにより、1) 好酸球が肺における感染防御に必須であること、2) 好塩基球は感染後10日目前後で排虫に作用していることを示唆する結果を得たので報告する。抗FcεR1抗体(MAR-1抗体)投与により、好塩基球を除去したマウスにL3幼虫を感染させると、排虫がコントロール群に比較して6-7日遷延した。この排虫の遅れは感染後10日目から明らかになった。感染後10日目において*S. venezuelensis* は、成虫として上部小腸に生息していることから、この時点で差が出るということは、好塩基球が直接的あるいは間接的に小腸における排虫に作用していることを示唆している。更に、ジフテリア毒素投与により好酸球と好塩基球両方が消失するBasTRECK-Tgマウスにおいても、排虫がジフテリア毒素無投与群より6-7日遷延し、MAR-1抗体投与マウスと同様の結果を示した。ただし、BasTRECK-Tgマウスにおいては糞便中の虫卵数が感染後6日目から一貫して高かった。その原因として末梢の好酸球減少により、肺における好酸球による防御機能が低下していることが考えられた。一方、好塩基球を除去しても、感染後10日目の腸間膜リンパ節細胞におけるTh2分化が抑制されることはなく、また小腸における粘膜型肥満細胞の増殖が影響を受けることはなかった。以上の結果から、*S. venezuelensis* 感染に対する生体防御機能として、従来からの小腸粘膜型肥満細胞に加え、肺における好酸球と小腸粘膜における好塩基球も重要な役割を演じていることが明らかとなった。

プログラム12

旋毛虫感染マウスにおける腹腔マクロファージの Alternative activation

○井上菜菜瀬、入子英幸、大槻 均、福本宗嗣
鳥取大・医・医動物学

旋毛虫感染マウスでは、感染5日目頃から小腸粘膜内で雌成虫が新生幼虫を産出し、その多くは血流を介して横紋筋へ移行し筋肉内幼虫に発育する。その際、新生幼虫の一部は腹腔内へ浸出し、一時的な腹腔マクロファージの増加が観察される。多くの寄生蠕虫感染において、マクロファージの Alternative activation が報告されているが、旋毛虫感染マウスの腹腔マクロファージの役割や機能については不明な点が多い。そこで、旋毛虫感染マウスの腹腔マクロファージの遺伝子発現について、半定量 RT-PCR 法にて検討を行った。

旋毛虫の筋肉内幼虫 500 隻を経口投与したマウスの腹腔マクロファージは、6 日目で 4×10^5 、その後は徐々に増加し 18 日目で最大の 3×10^6 となり、その後減少した。この腹腔マクロファージの Alternative activation の指標として Ym1, FIZZ1, Arginase1 を、Classical activation の指標として IP-10, TNF- α , iNOS を用いた。

まず、未感染マウスの腹腔に Thioglycollate を投与し、4 日後に回収した腹腔マクロファージをコントロールとして用い、遺伝子発現を検討した。このマクロファージの培地に IL-4 (20 ng/ml) を添加すると Ym1, FIZZ1, Arginase1 の mRNA は強く発現し、IP-10, TNF- α , iNOS は発現しなかった。一方、同じ腹腔マクロファージを LPS (100 ng/ml) 刺激すると、Ym1, FIZZ1 は発現せず、Arginase1 のわずかな発現と IP-10, TNF- α , iNOS の高い発現が見られた。

旋毛虫感染マウスの腹腔マクロファージでは、Ym1, Arginase1 の遺伝子発現が感染 6 日目から上昇し 18 日目に最大となり、慢性期には発現が消失した。FIZZ1 は感染 12 日目から慢性期まで発現が上昇した。しかし、IP-10, TNF- α , iNOS の発現は感染期間を通じて見られなかった。

以上より旋毛虫感染マウス腹腔では新生幼虫の産生とともにマクロファージ数が増加しそれらに Alternative activation が認められた。今後は腹腔で観察される新生幼虫の病態への関与とマクロファージの Alternative activation の機序および役割について検討する。

プログラム13

年一回の集団治療が尿中のフィラリア特異的 IgG4 抗体に及ぼす影響：スリランカにおける 7 年間の追跡調査結果

伊藤 誠¹, Mirani V. Weerasooriya², Channa T. Yahathugoda², 高木秀和¹, Wilfred A. Samarawickrema², ○木村英作¹

¹愛知医科大学医学部寄生虫学、²ルフナ大学医学部寄生虫学（スリランカ）

【研究の背景・目的】世界リンパ系フィラリア症征圧計画は 2000 年に開始され、2020 年までに完了する予定である。計画の基本戦略は年一回の集団治療 (MDA) で、流行地の全住民を対象に 5 回実施することになっている。治療薬はジエチルカルバマジンとアルベンダゾールである。計画開始後既に 10 年が経過し、多くの国で 5 回の MDA が終了している。今後の大きな課題は、征圧完了の確認であるが、一方、再燃の早期発見も極めて重要である。いずれの場合にも、感度の高い診断法が必須となる。

尿中に存在するフィラリア特異的 IgG4 抗体を検出する ELISA 法 (尿 ELISA) は、高い感度と特異性を持ち、検体採取が容易なことから、感染率が低下している post-MDA ステージには特に有用と考えられる。尿 ELISA の有用性を確認するため、MDA の前後で小・中学生より尿を採取し、抗体価の変動を解析した。

【方法】スリランカでは、2002 年～2006 年の間に 5 回の MDA が実施された。この MDA の効果を評価するために、スリランカ南部の内陸部に位置する Deniyaya 地方の 7 つの小・中学校において MDA 前後に尿中抗体を検出した。生徒は 1～12 年生で、年齢は 6～18 歳である (少数の 5 歳、19 歳者を含む)。サンプル数は約 1,000～1,600/年である。サンプル採取には教員の協力を得た。

MDA 終了後 25 カ月目 (2008 年 9～10 月) に、4 回目、5 回目 MDA 終了後になお尿 ELISA 陽性であった生徒 (11 人) およびその家族 (45 人) を対象に、尿 ELISA、ICT テスト (抗原検査)、ミクロフィラリア (mf) 検査を実施し、感染の有無を確認した。

尿 ELISA の方法は既に報告した。IgG4 抗体価は Unit (range: 0-7,290 U) で示され、カットオフ値は 54.7 U である。

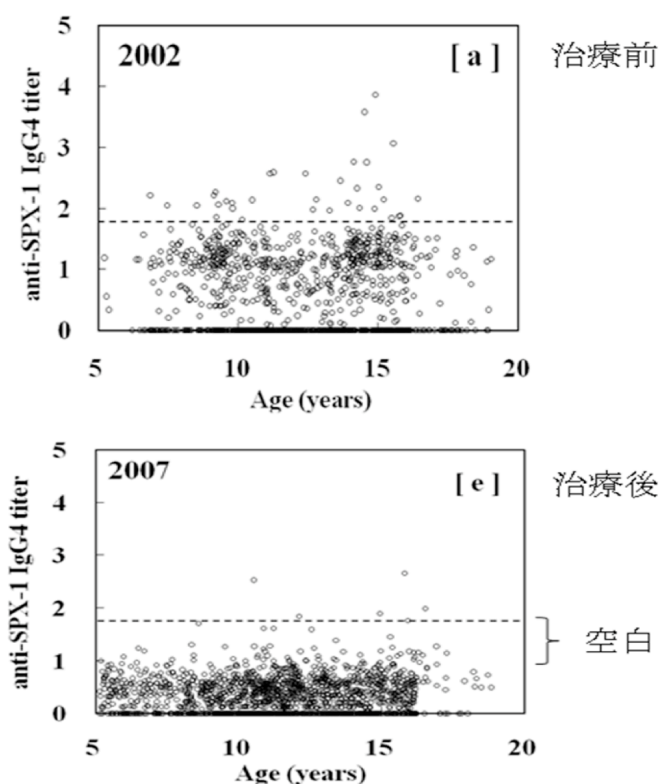
【結果】治療前 (2002 年) の尿 ELISA 陽性率は 3.20% であったが、1 回の治療により翌年には 0.91% に減少した ($P < 0.001$)。5 回目の MDA 後 (2007 年) は 0.36% であった。最近のフィラリア伝搬を反映する 5～10 歳児でも、3.37% (治療前) から 0.51% (2003) に減少した ($P < 0.01$)。最も若い尿 ELISA 陽性児は、治療前 (2002 年) 6.8

歳、2003 年 9.9 歳、それ以降は 9.5 ～ 11.2 歳であった。年齢別 IgG4 抗体価の分布を特に治療開始前と終了後について Figure 1 に示す。治療前は年齢とともに抗体陽性者の抗体価が上昇する傾向が見られた。MDA 終了後はカットオフ線の直下の境界域抗体価とみなされる領域に空白が認められ、治療により陰性抗体価でもさらに減少することが示された。

MDA 終了後 25 カ月後の再検査では、56 名が検査され、ICT テストを受けた 54 人全員が陰性、m f 検査を受けた 46 人が全て陰性、尿 ELISA を受けた 49 人中 3 人が陽性反応を示したが、これら 3 人は ICT テスト、m f 検査共に陰性であった。

【まとめ】尿 ELISA は m f や抗原検査では発見できない、わずかな感染状況の変化を感知できる可能性を示した。カットオフ線の直下に見られた空白がどのような意味を持つのか今後検討を要する。最も若い尿 ELISA 陽性者の年齢は、MDA の進行により上昇すると考えられ MDA 評価の指標になり得ると思われる。採尿はきわめて容易で、とくに小学校を対象にすれば短時間に多数のサンプルを採取することが可能である。まず尿 ELISA 陽性者をリストアップし、引き続いて異なる検査法により再検するという手順は、フィラリア症征圧の確認や再燃の早期発見に役立つものと期待される。

Figure 1



プログラム14

バンクロフト糸状虫リコンビナント抗原SXP1 の尿診断法への応用と評価

○伊藤 誠¹、高木秀和¹、長岡文晃¹、Mirani V. Weerasooriya²、Njeri Wamae³
木村英作¹

¹愛知医科大学・医・寄生虫学、²スリランカ・ルフナ大学、³ケニア・メソジスト大学

WHO は年1回のジエチルカルバマジンとアルベンダゾールの集団投与によって、2020年までにリンパ系フィラリア症をeliminate することを目指しており、各国で対策が進められている。現在、血液中の抗原を検出するイムノクロマト法 (ICT Filariasis) が診断法として広く使われているが、集団治療による対策が進み寄生する虫体数が少なくなると、流行状況の把握にはより高感度な方法が求められる。抗体は過去の感染によっても陽性になる場合があるが、少数感染の場合は抗原検出よりも早期に陽性になると考えられる。我々はこれまでに、バンクロフト糸状虫症 (Wb 症) 患者尿中にフィラリア抗原に対するIgG4 抗体を検出する高感度で特異度が高い ELISA 法を開発した。当初、フィラリア抗原として、*Brugia pahangi* の雌成虫の粗抗原を用いていたが、(1) *B. pahangi* の生活環を維持するのに多大な費用と労力が必要であること、(2) より特異性を高めることが期待できることから、Wb リコンビナント抗原を用いた抗体測定系を作成した。これまでに得られたデータを基に、リコンビナント抗原を用いたELISA 法について報告する。

Wb のcDNAライブラリーより得られた抗原を患者血清でスクリーニングすることにより、陽性反応が最も多く得られたSXP1 抗原を診断用の抗原として選択した。抗体測定はELISAで行い、*B. pahangi* 粗抗原は5 μ g/ml、SXP1 は1 μ g/ml でコートしたプレートを用いた。尿検体は、濃縮せずにそのまま用い、25℃で一晩反応させてから、ペロキシダーゼ標識抗ヒトIgG4 で、SXP1 特異的なIgG4 抗体を検出した。各プレークには常に段階希釈した陽性血清を加え、得られた検量線から尿中の抗体価を半定量した。スリランカのWb 症流行地で得られた、フィラリア抗原陽性者 (Og4C3 キットによる) からの尿74 検体を用いた場合、SXP1 に対する抗体は70 検体 (94.6%) で陽性となり、粗抗原での陽性69 検体 (93.2%) とほぼ同じであった。また、別のフィラリア抗原キット (ICT Filariasis) 陽性者51 人からの尿検体では、SXP1、粗抗原に対する陽性検体はそれぞれ、50検体 (98%)、48 検体 (94.1%) であった。中央アフリカで得られた、常在糸状虫 (*Mansonella perstans*) 感染者38 例中、SXP1 では12 例 (31.6%)、粗抗原では31 例 (81.6%) が陽性となった。また、ロア糸状虫感染者13 例では、SXP1 では4 例 (30.8%)、粗抗原では13 例 (100%)

が陽性となった。以上の結果より、Wb リコンビナント抗原SXP1 は、*B. pahangi* 粗抗原とほぼ同等の感度を持ち、より特異性の高い、優れた抗原であることが示された。（中央アフリカからの尿検体は、故辻 守康教授から分与していただいたものを使用しました。）

プログラム15

新規抗マラリア薬の開発研究

～環状化酸化化合物の抗マラリア活性と体内動態～

○脇本達也¹, 岡田和朗¹, 松本雅弘¹, 小林明日香¹, 森田将之¹, 野島正明², 川合 寛³, 平本晃子¹, 佐藤 聡¹, 金 惠淑¹, 綿矢有佑¹

¹岡山大・薬・医薬品情報, ²大阪大・工, ³獨協医大・熱帯病寄生虫

我々は薬剤耐性熱帯熱マラリアに有効な新規抗マラリア薬の開発を目指して研究を行っている。現在マラリア治療薬として WHO (世界保健機構) に推奨されている ACT 療法 (Artemisinin-based combination therapy) のベースであるアルテミシニンと同様の環状過酸化構造を有する有機合成化合物の抗マラリア活性をスクリーニングした結果、約 500 種の化合物の中から優れた抗マラリア活性と選択毒性を示す環状過酸化化合物 1,2,6,7-tetraoxaspiro[7.11]nonadecane-4-hexanol (N-251) を見出した。N-251 は、*in vitro* 及び *in vivo* の実験系で優れた抗マラリア活性を有し、マラリア感染マウス及びニホンザルを単剤で完治した。N-251 は水に難溶性であり、動物に投与する際はオリーブオイルを溶媒として使用していたが、N-251 の臨床応用を考え、ヒトが服用しやすい剤形にする必要がある。

そこで従来の油脂系溶媒に代わる新しい剤形として、N-251 を微粒子化し添加剤を加え生理食塩水に懸濁させた N-251 微粒子懸濁液を作製した。作成した微粒子懸濁液を用いて体内動態解析及び治療試験を行い、従来の剤形と比較した。

この懸濁液の生物学的利用能 (BA) は従来の剤形よりも高く、更に治療試験を行ったところ、従来の剤形よりも低い投与量でマウスを全数完治した。N-251 を微粒子化することで、従来の油脂系溶媒よりも服用しやすく静脈注射にも用いることが可能な懸濁液を作成できた。この懸濁液はマラリアの治療効果が増加しており、優れた剤形である。現在、更に検討を加え、臨床試験へ向けて治療効果の向上と、より臨床に適した剤形の開発を行っている。

プログラム16

環状過酸化化合物の抗マラリア作用機序の解析

○鎌井一気¹, 森田将之¹, 小山貴彦¹, 秀野勇人¹, 江文¹, 林孝輔¹, 平本晃子¹, 佐藤聡¹, 平岡修², 平本一幸², 野島正朋³, 綿矢有佑¹, 金恵淑¹

¹岡山大・院・医歯薬学総合, ²就実大・薬, ³大阪大・工

我々が開発した環状過酸化化合物 N-89 及び N-251 は *in vivo* 及び *in vitro* で高い抗マラリア活性を示すことがわかっており、現在、これら環状過酸化化合物の抗マラリア作用機序の解析を行っている。

すでにいくつかのプロテオーム解析により環状過酸化化合物の標的タンパク質を選抜している。この標的タンパク質の機能解析を行うため、リコンビナントタンパク質、及びモノクローナル抗体を作製した。Trophozoite 期に同調した熱帯熱マラリア原虫に環状過酸化化合物を作用させ、経時的に Western blotting を行った結果、標的タンパク質は作用時間に応じて減少した。

これら環状過酸化化合物は鉄イオンの存在下でフリーラジカルを産生することが明らかとなっているため、標的タンパク質の減少とフリーラジカルの産生との関連を検討した。以前行った *in vitro* におけるフリーラジカル検出条件の改良により、生体内の条件に近い pH6.0 でフリーラジカルが検出できた。しかし複数のラジカル種の存在が示唆され、ラジカル種の特定はできなかった。現在、これらラジカルに関してさらに詳しく解析を進めている。

さらに同条件で環状過酸化化合物と鉄イオンを反応させると標的タンパク質は切断され、短い断片が検出された。このことから標的タンパク質がフリーラジカルによって切断され、最終的に抗マラリア活性につながると考えられる。

教育講演 2

文部科学省特別経費プロジェクト
「難治性感染症を標的とした創薬研究
教育推進事業」 公開シンポジウム

プログラム 17

新規医薬品創製における薬物動態の意義 — 薬物代謝酵素を中心に —

○成松 鎮雄

岡山大・院・医歯薬

近年の科学技術の目覚ましい発展により、多くの優れた医薬品が創製され、これまで幾多の人命を奪ってきた重篤な疾病の治療・治癒が可能となっている。その一方で、癌、エイズや薬剤耐性病原体による感染症等に対する対策が必要となり、新規医薬品開発に莫大な資金と人材が注ぎ込まれているが、期待される大型新薬創出にはなかなか結びつかないのが現状である。医薬品候補がドロップアウトする要因の一つに薬物動態 (Administration, Distribution, Metabolism and Excretion, ADME) が挙げられ、1990 年台にはドロップアウトの原因の約 40% を ADME が占めていたが、2000 年台には 10% 前後にまで下がってきている。また、既に臨床に供されている医薬品による重篤な副作用発現が大きな問題となっており、その要因の一つとして、やはり ADME が関与する。すなわち、ADME の主要な役割を担う薬物代謝酵素やトランスポーターの遺伝子多様性、薬物間相互作用等である。

我々の所属する岡山大学大学院医歯薬学総合研究科では平成 22 年度に文科省概算プロジェクトとして「難治性感染症を標的とした創薬研究教育推進事業」(平成 22～26 年) が採択された。これは、中国、韓国、インドネシア、インド、ガーナ等アジア・アフリカ諸国の大学や研究所と連携し、各地で産出される天然物を原料として、マラリア、リウシュマニア、住血吸虫病、C 型肝炎、多剤耐性菌感染症等の難治性感染症に対する治療薬創製を目標とするプロジェクトであり、医歯薬学融合型戦略により事業を進めている。

我々は薬物代謝化学の立場から、医薬品を中心とする化学物質の体内変化と毒性発現の関連性、薬物代謝酵素の遺伝子多型性と発現酵素タンパク質機能の関連性等について分子レベルでの検討を展開している。この概算プロジェクトでは、医薬品候補になる可能性のある化学物質あるいはそれを含む混合物の生体内変化(代謝)と毒性評価を分担している。天然物成分由来化合物、あるいは合成化合物が如何に優れた薬効を示したとしても、それが最終的に医薬品として認可されるまでには多くの障害を乗り越える必要があり、その要素の一つが ADME である。本講演では ADME の中心的役割を担う薬物代謝酵素の基礎と最近の知見について、我々の研究成果を交えてご紹介する。

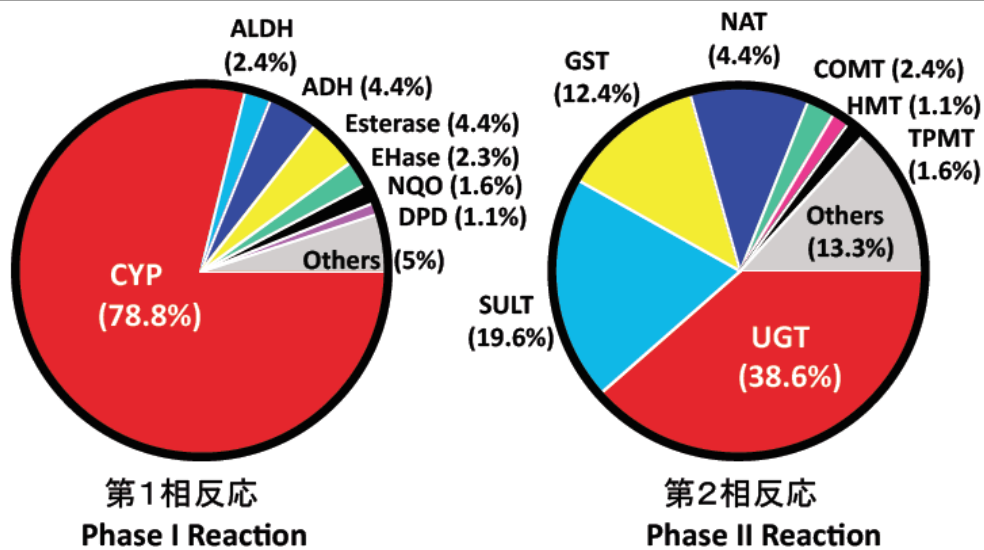


Fig. 医薬品の第1相及び第2相反応における薬物代謝酵素の寄与率

プログラム 18

薬剤耐性菌、食中毒細菌等に作用する天然物質の探索

○波多野 力

岡山大院・医歯薬・天然医薬品開発学分野

新規な医薬品を開発しようとする場合、植物をはじめとした自然界にその資源を求めようとする試みは、19世紀初頭からのモルヒネ、エメチン、キニーネ、レセルピンなどの単離・構造研究にはじまり、近年のパクリタキセルなどの抗腫瘍薬の開発に至るまで広く行われてきている。また天然物質をリード化合物として医薬品を開発する試みについても、コカインからプロカインやプロカインアミドなどが、またツボクラリンからヘキサメトニウムやスキサメトニウムが開発されてきたことなどは良く知られるところである。近年では特に新規な医薬品開発の素材としての生薬について、低毒性で有効な成分の開発が期待され、種々の検討が進められている。

タンニン天然に広く分布し、特定の植物には非常に多量含まれるが、化学構造についての検討は非常に遅れた化合物群であった。近年、分離・分析技術や構造決定法の進歩に伴い、多くのタンニンが単離され、その化学構造の解明が進展するにつれて、個々の化学構造を基礎とした生物活性についての検討が可能となってきた。その結果、抗酸化作用を基礎とした種々の作用や、抗腫瘍作用・抗ウイルス作用等が明らかになっている。また特にメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）をはじめとした薬剤耐性菌に対する抑制物質の探索の過程で、茶葉やバラ科、ツツジ科植物等のタンニンがこうした作用の本体であることも明らかになってきている。

MRSAは現在、各種の薬剤耐性菌の中で非常に多くの割合を占めるものであるが、 β -ラクタム剤のみならず多くの抗生物質に耐性を示すものが多く見いだされている。私たちは、本学の微生物医薬品開発学分野の土屋友房教授のグループとの共同研究によって、数種のタンニンやフラボノイドに、抗生物質との併用による効果の増強を見出してきており、その機構として細菌細胞膜に対する作用や β -ラクタマーゼに対する作用、薬剤排出系に対する作用などの関与をも明らかにしている。

他方、*Vibrio* や *Aeromonas* のような食中毒細菌に対しても、本学の蛋白質機能制御科学分野の岡本敬の介教授のグループとの共同研究の結果、東南アジア産薬用植物の成分が抗菌作用を示すことを見出している。

また、*Leishmania* に作用する天然物質の探索をも医薬基盤化学分野の綿矢有佑教授のグループと共同で進めており、その結果の一部についても紹介する。

プログラム 19

孤発性神経変性疾患発症機序の解明から創薬へ

○上原 孝

岡山大・薬・薬効解析学

高齢化社会の到来に伴い、老人性疾患とも称されているパーキンソン病やアルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患罹患者数は爆発的に増加している。我が国で処方されているすべての薬はいわゆる対症療法薬であり、病気の進行を一時的に遅らせるだけに過ぎない。したがって、完全に治す（たとえば、記憶が戻る、運動機能が回復する）ことが可能な根本的治療薬の開発ならびに早期診断が可能な簡便的方法の確立が全世界的に急務である。

昨今の研究は、遺伝的な背景を有する家族性疾患患者から同定した変異遺伝子産物の病態生理的役割を明らかにし、それを除く（抑制する）薬物を探索するというものである。しかしながら、このような戦略は完全なものではない。その理由として、実際の患者の9割以上は遺伝子異常を持たない孤発型であり、家族性疾患患者とは発症機序が異なることが示唆されているためである。そのため、病態発症機序の解明が最も重要であり、その情報を基盤として診断法の確立や根本的治療薬の開発に向かう必要がある。

私たちはこれまでに一酸化窒素（NO）による神経細胞死惹起機構ならびに小胞体蛋白質の脳虚血ストレス抵抗性獲得機構の研究を行ってきた。その過程で、ある偶然から両機構が密接にリンクしていることを見出した。すなわち、NOによるニトロソ化（酸化）ストレスが小胞体蛋白質の酵素活性に影響を与えることで変性蛋白質が蓄積し、結果として神経細胞死とそれに続く神経変性疾患が発症する可能性を示唆した。

本シンポジウムでは、予想される酸化ストレスによる神経変性疾患発症機構と私たちが取り組んでいる早期診断法／創薬へのアプローチの一部を紹介する予定である。

参考文献

1. Tanaka, **Uehara, T.**, and Nomura, Y. *J. Biol. Chem.* 275, 10388-10393 (2000).
2. Ko, H.S., **Uehara, T.**, and Nomura, Y. *J. Biol. Chem.* 277, 35386-35392 (2002).
3. Yao, D., Gu, Z., Nakamura, T., Shi, Z., Ma, Y., Gaston, B., Palmer, L.A., Rockenstein, E.M., Masliah, E., **Uehara, T.**, and Lipton, S.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 10810-10814. (2004).
4. Lipton, S.A., Nakamura, T., Yao, D., Shi, Z., **Uehara, T.**, and Gu, Z. *Science*, 308, 1870 (2005).
5. Tsuruma, K., Nakagawa T., Morimoto N., Hara, H., **Uehara, T.***, and Nomura, Y. *J. Biol. Chem.* 281, 11397-11404 (2006).
6. **Uehara, T.**, Nakamura, T., Yao, D., Shi, Z.Q., Gu, Z., Ma, Y., Masliah, E., Nomura, Y., and Lipton, S.A. *Nature* 441, 513-517 (2006).
7. **Uehara, T.*** *Antioxid. Redox Signal.* 9, 597-601 (2007).
8. **Uehara, T.*** and Lipton, S.A. Screening systems for identification of S-nitrosylated proteins. *Nitric Oxide* in press (2011).

プログラム 20

医薬品開発の基礎から応用まで —抗マラリア薬開発研究を例に—

綿矢有佑

岡山大学・薬・分子医薬品情報学

岡山大学「国際共同創薬基盤センター」は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科を中心として中国、韓国、タイ、インドネシア、ガーナの大学・研究所と共同で、感染性微生物、特に、有効な治療薬のない感染症の病原体、薬剤耐性を獲得した病原体を標的とした医薬品の開発研究を行う目的で設立した。現在、医薬品開発の初期段階である候補化合物の探索研究を行っている。

本発表では「国際共同創薬基盤センター」の概要と、実際に開発研究中である抗マラリア薬開発研究を例に、新規薬剤候補化合物の探索から臨床試験に向けた前臨床試験までの過程を簡単に紹介する。

マラリアは世界三大感染症の一つで、世界人口の約半数が危険に晒され、毎年約 100 万人の死亡者を出している重篤な寄生原虫感染症である。現在、耐性原虫にも有効な治療法として ACT (Artemisinin-based Combination Therapy) が WHO から推奨されているが、この治療法のベースとなっているアルテミシニン系薬剤は構造が複雑で全合成が困難であるため安定供給が難しい。また、これらの治療法に対しても効果が得られないマラリア原虫が報告され、新しい薬剤の創製が急務となっている。

我々の研究室では 1996 年から約 8000 種類の化合物をスクリーニングし、抗マラリア薬の候補化合物として環状過酸化構造を有する N-89、及び N-251 を選別した。これら化合物について、抗マラリア薬効評価以外に、安全生試験、体内動態試験、医薬品規格に準拠する大量合成法の確立等、臨床試験時に必要な試験を実施した。現在、臨床試験に向けたデータの補完と、マラリア蔓延地域での投薬を念頭に置いた剤型の改良を行っている。

プログラム21

ミツバチの死因に関する寄生虫学的アプローチによる研究

(1) バロア病とノゼマ病について

○大西義博

大阪府大・院・獣医

近年、セイヨウミツバチの大量死が養蜂産業において世界的に問題化している。これは養蜂群崩壊症候群 (Colony collapse disorder, CCD) と呼ばれている。この原因として、ウイルス感染などの疾病説、栄養失調説、殺虫剤説、電磁波説、遺伝子組み換え作物説、過労や環境の変化によるストレス説などが考えられている。

一方、ミツバチの疾病として、日本の家畜伝染病予防法では腐蛆病 (アメリカ腐蛆病菌 *Paenibacillus larvae* によるものとヨーロッパ腐蛆病菌 *Melissococcus plutonius* によるもの) を法定伝染病に、バロア病 (ミツバチヘギイタダニ *Varroa jacobsoni* によるもの)、チョーク病 (不整子嚢菌綱の真菌 *Ascosphaera apis* によるもの)、アカリンダニ症 (アカリンダニ *Acarapis woodi* によるもの) およびノゼマ病 (ノゼマ科の原虫 *Nosema apis* によるもの) を届出伝染病にそれぞれ指定している。しかし、日本ではこれら疾病についての感染状況については十分調査されていないのが現状である。

今回、バロア病とノゼマ病の感染の有無について、PCRにより検査を試みたので報告する。検体は岡山県内のある養蜂家より採取したセイヨウミツバチのサナギ45匹と成体139匹 (これらにはダニが寄生したものを含んでいる)、ダニ16匹である。検体は採取後、70%アルコールに固定し冷凍保存した。病原体のDNAはミツバチとダニの体の一部からQIAamp DNA Mini Kit (Qiagen社) を用いて抽出し、PCRに供した。

ミツバチから採取したダニの大きさ ($n=27$) は胴長 $1127 \pm 35 \mu\text{m}$ 、体幅 $1672 \pm 24 \mu\text{m}$ 、胴長/体幅の比は0.67であった。ダニの足から抽出したDNAを用いて、Anderson & Fuchs(1998) の方法に準じてPCRを行ったところ、376bpのバンドが検出された。このDNAをDNAダイレクトシーケンス法で調べたところ、*V. destructor* のそれに一致した。このことから、日本のセイヨウミツバチには、バロア病の原因病原体であるミツバチヘギイタダニ *V. jacobsoni* ではなく、種の異なる *V. destructor* が広く分布している可能性が示唆された。

一方、ノゼマ病の病原体についても、Chen et al.(2009) の方法に準じて *N. apis* 又は *N. ceranae* を検出するprimersを用いてPCRを行ったところ、250bpのバンドが検出された。このDNAについてもDNAダイレクトシーケンス法で調べたところ、*N. ceranae* のそれに一致した。また、この病原体のミツバチにおける保有率は、ダニの寄生の有無に関わらず極めて高率であった。

これらのことから、これら病原体の寄生がミツバチの CCD の一因であると考えられた。

プログラム 2 2

毛細線虫類の分子系統分類学的種診断の試み

○ 戸田正枝¹、相津康宏¹、藤井浩平¹、Mosaab Omar¹、Khaled Sultan¹、佐藤 宏¹

¹ 山口大・農・獣医寄生虫

毛細線虫亜科 Capillariinae は鞭虫亜科とともに鞭虫科に属し、スティコソームと呼ばれる特徴的な食道をもつことや微細な虫体が特徴的である。その種数は約 300 を超え、脊椎動物門各綱の動物を宿主として、寄生部位も消化管だけでなく気道、肝実質、膀胱と様々である。ネズミの肝臓に寄生する肝毛細線虫 *Calodium hepaticum* や肉食動物の気道に寄生する *Eucoleus aerophilus*、水禽が自然宿主と推測されるフィリピン毛細線虫 *Paracapillaria (Crossicapillaria) philippinensis* など人体寄生もする。

Dujardin(1845)、Travassos(1915)、López-Neyra(1947)、Skryabin et al.(1957)、Freitas(1959)など多くの学者が、毛細線虫類を形態学的特徴によりいくつかの属に分類しようと試みてきた。ところが毛細線虫は雌雄虫体ともに特徴的な構造が少なく、形態学的分類基準を巡って議論が続いた。このこともあり、ごく一部の専門家を除くと、*Capillaria* 属にすべての種を含める便宜的分類法を採用してきた経緯がある。今日でも、この便宜的分類を使いがちであるが、雄虫の尾端構造に重点を置いた新たな分類体系を提唱した Moravec(1982)以降は、この形態学的分類基準に従うのが正式には求められている。現在のところ、毛細線虫亜科は 27 属・17 亜属に分類されるまでになっているが、その妥当性について分子系統学的な検証はまったく行われていない。また、形態学的基準による毛細線虫の種同定は専門性が高く、実際には難しいことも考えると、今後、その種診断において、簡便で客観性のある遺伝学的手法の応用を考えていく必要性も高いように思われる。

今回、本研究室でこれまでに収集した毛細線虫標本について形態および遺伝子の両方による分類を試みることで、上記課題解決の可能性を探った。収集標本は、アライグマ、アメリカミンクの膀胱からの *Pearsonema* sp./spp.、コブハクチョウ、コクチョウの小腸からの *Baruscapillaria gigantotecta*、大腸からの *Capillaria pudendotecta*、ハシブトガラスの消化管からの *Capillaria* sp.、ヤギの第四胃と小腸からの *Aonchotheca* sp.、ニホンイノシシの胃からの *Aonchotheca suis*、*Aonchotheca riukiensis*、*Aonchotheca* sp.、*Eucoleus* sp.、テン、タヌキ、アナグマ、ネコ、チョウセンイタチ、アライグマ、ハリネズミの胃または小腸、もしくはその両方からの *Aonchotheca putorii*、タヌキ、アナグマ、ネコ、アライグマの同寄生部位からの *Aonchotheca* sp.、タヌキ、アナグマ、ネコの胃からの *Eucoleus* sp.、アナグマの小腸からの *Eucoleus* sp.、アライグマの食道からの *Eucoleus* sp.、チョウセンイタチの気管からの *Eucoleus* sp. である。

これらの標本について光学顕微鏡下で観察可能な形態に基づく分類を行い、18S rRNA 遺伝子 (18S rDNA) について PhyML 法による系統樹解析を行うとともに、系統樹作成の際にギャップ部分として除外したループ部の塩基配列の検討も行った。形態と遺伝子の 2 種類の手段による分類は属、種、および種内での系統の各レベルで互いに一致した。すなわち、毛細線虫の形態学的特徴による分類は 18S rDNA 塩基配列による変異をよく反映しており、この遺伝解析が新たな分類手段として有用である可能性が示された。亜科内の各属を特徴づけるマーカーとなる変異部分の特定、種内変異としてみられる 18S rDNA 内の塩基変化の意義についても検討を試みている。

プログラム 2 3

メジマグロ筋線維内寄生の *Kudoa neothunni* の分子系統学的位置づけ李 迎春¹、○藤井浩平¹、田中秀平²、佐藤 宏¹¹山口大・農・獣医寄生虫病、²植物病理

メジマグロは、クロマグロ(*Thunnus thynnus* (Linnaeus))の若魚の呼称で、市場ではホンマグロとも呼ばれる。某市場で入手したメジマグロの筋線維内に 6 つの極囊／孢子殻をもつ *Kudoa* 属粘液孢子虫を検出した。孢子は 6 尖の星形で、計測値は以下の通りであった(平均±標準偏差[範囲]、n=26): 孢子 width は 11.1 ± 0.4 (10.4—11.8) μm 、孢子 suture width は 8.5 ± 0.3 (7.9—9.1) μm 、孢子 thickness は 10.0 ± 0.3 (9.4—10.5) μm 、孢子 length は 7.5 ± 0.6 (6.5—9.1) μm 、極囊 width は 1.2 ± 0.2 (0.9—1.7) μm 、極囊 length は 3.3 ± 0.3 (2.7—3.9) μm であった。寄生動物や孢子の形態から *Kudoa neothunni* が考えられるが、計測値には若干の相違もあった。Arai & Matsumoto (1953)によって記載された本種は、キハダマグロ(*Thunnus albacares*)の体側筋に見出され、ジェリーミートの原因ともなるとされている。キハダマグロの他に、メバチマグロ(*Thunnus obesus*)や三陸沖のクロマグロ(*Thunnus thynnus*)からも寄生が確認されている。極囊 6 個の *Kudoa* 属粘液孢子虫としては、他に Adlard et al. (2005)が 3 種(*Kudoa grammatorcyni*; *Kudoa scomberomori*; *Kudoa thalassomi*)を記載し、そして、私たちの研究グループ (Matsukane et al., 2010)でもヒラメ寄生種で 6 もしくは 7 の極囊をもつ *Kudoa septempunctata* を報告している。今回の材料について、18S から 28S にかけて一連の rDNA 塩基配列 (約 4,150-bp) を決定した。18S rDNA あるいは 28S rDNA にもとづく分子系統樹による解析を行うとともに、*Kudoa* 属粘液孢子虫では従来あまり検討のなかった ITS 領域の塩基配列の特徴について検討した。

プログラム24

臨床検査領域における寄生虫および衛生動物学的検査の現状

○森本徳仁¹、是永正敬²¹高知大・医・附属病院検査部、²高知大・医・寄生虫学

【はじめに】国内における寄生虫疾患は衛生環境の向上に伴い減少したとされているが、国際交流の発展に加え、食生活の多様化やペット愛好家の増加などにより、近年再び増加傾向にあるといわれている。寄生虫学的検査は病院検査室あるいは検査センターなどで臨床検査技師が行っているが、実際に寄生虫を目にしたことがないという技師も多い。そこで今の寄生虫検査の実情を得ることを目的として技師を対象に実際の現場における寄生虫検査に対する質問をアンケート形式で実施した。

【対象および方法】昨层高知市にて実施された寄生虫関連の研修会に参加した技師74名に技師経験年数、寄生虫症・衛生動物関連症の経験の有無、過去に経験した寄生虫および衛生動物、勤務先での年間の寄生虫・衛生動物に関する検査依頼数について無記名のアンケート形式で行った。

【結果】74名中37名(50%)から回答を得た。勤務施設は高知市内(7名)、高知県東部(7名)、高知県西部(10名)および高知県外(13名)で、全体の81.1%が病院勤務の技師であった。経験年数は0.6-38年(平均18.9年)で、寄生虫症、衛生動物関連症例の経験を有するものは29名で全体の78.4%であった。技師経験年数が長い技師ほど寄生虫症・衛生動物関連症の経験が多い傾向が見られた。年間の寄生虫・衛生動物の検査依頼は0-700件(セロファンテープ法で数万件は除外した)と施設間による著しい差が認められた。年間検査件数と検出数に関連性は認められなかった。検出された寄生虫および衛生動物は次の通りであった(カッコ内は経験した人数)。**線虫類**：アニサキス(10)、蟯虫(6)、回虫(4)、糞線虫(2)、鉤虫(2)、東洋眼虫(2)、鞭虫(1)、*Diploscapter coronata*(1)、**吸虫類**：横川吸虫(6)、ビルハルツ住血吸虫(1)、**条虫類**：日本海裂頭条虫(6)、広節裂頭条虫(1)、大複殖門条虫(1)、**原虫類**：膾トリコモナス(16)、ランブル鞭毛虫(5)、赤痢アメーバ(3)、マラリア原虫(2)、メニール鞭毛虫(1)、腸トリコモナス(1)、アカントアメーバ(1)、戦争イソスポーラ(1)、歯肉アメーバ(1)、**衛生動物**：シラミ(4)、疥癬(2)、マダニ(1)、恙虫(1)、ヒゼンダニ(1)、ミズアブの幼虫(1)、スズメバチ(1)、マムシ(2)、ハブ(1)。

【考察】施設の規模にも依存すると思われるが、寄生虫検査の実施件数に大きな差が認められた。日常の臨床検査では教科書に記載されているような寄生虫に頻繁に遭遇することは少ないうえ、過去に寄生虫を経験した技師が減少し、寄生虫を全く経験したことのない若い技師が増えていく実態が寄生虫の検出率低下につながっていることも示唆される。本結果からも示されるように、実際には多種多様な寄生

虫や衛生動物が検出されており、今後の寄生虫検査への更なる実用的な研修も必要かと思われた。

教育講演 3

文部科学省特別経費プロジェクト
「難治性感染症を標的とした創薬研究
教育推進事業」 公開シンポジウム

Calreticulin (crt) and Calnexin (cnx), Two Calcium Binding Chaperone Proteins in *C. elegans*

○Joohong Ahnn, Ph. D

Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul Korea

Both calreticulin and calnexin are ER (endoplasmic reticulum) chaperone proteins that have high-capacity and low-affinity calcium binding activity. Two proteins are very similar in their structures but may have different specific functions. For example, calreticulin has been shown to be up-regulated by unfolded protein response. Accumulation of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum triggers the unfolded protein response (UPR) pathway, which increases the expression of chaperones to maintain the homeostasis. Calreticulin is a calcium-binding chaperone located in the lumen of endoplasmic reticulum (ER). Here we show that in response to a UPR inducing reagent, tunicamycin, the expression of calreticulin (crt-1) is specifically up-regulated in *Caenorhabditis elegans*. Tunicamycin (TM) induced expression of the crt-1 requires IRE-1 and XBP-1 but is ATF-6 and PEK-1 independent. Analysis of the crt-1 promoter reveals a putative XBP-1 binding site at the -284 to -278 bp region, which was shown to be necessary for TM-mediated induction. Genetic analysis of crt-1 mutants and mutants of UPR pathway genes show various degrees of developmental arrest upon TM treatment.

Our results suggest that the TM-induced UPR pathway culminates in the up-regulation of crt-1, which protects the worm from deleterious accumulation of unfolded proteins in the ER. Knockdown of the crt-1, pdi- 2, or pdi-3 increased the crt-1 expression, whereas knockdown of the hsp-3 or hsp-4 did not have any effect on crt-1 expression, indicating the existence of complex compensatory networks to cope up with ER stress. Calnexin is another ER chaperone protein. Some of calnexin functions in *C. elegans* also will be discussed.

第 2 3 回 寄生虫疾病臨床検討会

肺吸虫症、肺外病変に着目してー最近 10 年間の報告例からー

○西尾福真理子、吉川正英、王寺幸輝、石坂重昭
奈良県立医科大学寄生虫学教室

肺吸虫感染症では、咳嗽、喀痰、呼吸困難、胸痛など肺実質あるいは胸膜病変に由来する症状が主体を成すが、肺外病変や呼吸器非関連症状も観察されることがある。医中誌にて「肺吸虫」にて検索した最近 10 年間の 150 余の文献資料から、肺外病変および呼吸器非関連症状について検討した。重複報告および施設集計報告も含まれ、症例総数の正確な把握は困難であるが約 150 例の報告がある。感染経路判明例の多くは、モクズガニ・サワガニあるいはイニシシ肉の生あるいは不完全加熱で食したものであったが、シカ肉やクマ肉が原因食材と推定される例もあった。中国や東南アジア出身の外国人も相当数含まれ、とくにタイ国人は 10 数名を占め、そのすべてはカニが感染源と推定された。肺外の病変発生部位として、大脳 1 例、腹膜 3 例、心嚢 1 例、肝臓 1 例があった。大脳例は左後頭葉および頭頂葉皮質に病変座があった。腹膜 3 例はそれぞれ、虫垂炎疑い、腹腔内膿瘍疑いおよび S 状結腸癌にて開腹手術され、その後の摘出組織の病理診断にて虫卵が確認されていた。比較的頻度が高いと思われたのは、皮膚病変あるいは皮膚症状で、皮下腫瘍を 11 例に認め、呼吸器症状出現に先行して腹部に移動する皮下結節を自覚したとする例が複数あった。腹痛など消化器症状を初期に認めた症例も報告されて、肺吸虫症の診断にあたっては、呼吸器関連症状のみならず、肺外の病変やあるいは異時性に出現する可能性のある消化器症状・皮膚症状などにも留意する必要がある。

プログラム 27

腹部腫瘍、両側胸水を伴いCTにて多発異常影を認めたウェステルマン肺吸虫症の1例

○田畑寿子¹、望月吉郎¹、中原保治¹、河村哲治¹、佐々木 信¹、岡本裕子¹、守本明枝¹、水守康之¹、塚本宏壮¹、真弓哲一郎¹、宮川倫子¹、渡部悦子¹、横山俊秀¹、三村一行¹、鏡亮吾¹、大西康貴¹、吉川正英²、杉山広³

¹独立行政法人国立病院機構・姫路医療センター・呼吸器内科, ²奈良県立医科大学・寄生虫学教室, ³厚生労働省国立感染症研究所寄生動物部

【症例】45歳女性。

【主訴】腹部腫瘍。

【既往歴】左下腿骨折

【家族歴】父：肝癌で死亡、祖母：糖尿病、

【職業】飲食店 【喫煙】10本/日 18-45才

【生活歴】アレルギー(-), ペット飼育歴(-), 旅行歴(-),

【現病歴】韓国出身で、30才頃から来日。平成21年9月姫路市内の友人宅で近くの川でとった毛のある小さいカニを生のままで熱いしょうゆにつけて数匹食べた。平成22年1月から、掻痒を伴う全身皮疹の消失と改善傾向を繰り返した。平成22年3月ごろより左胸部に違和感、腹部に腫瘍を自覚され平成22年4月前医を受診。CTにて腹壁皮下に腫瘍影、両側胸水を指摘され、当院紹介受診。微熱・咳嗽・喀痰あり。血痰を1回認めた。腹痛・下痢・血便なし。

【検査結果】

●血液検査 WBC 17200 / μ l, 好酸球 40%, IgE 1046 IU/ml, Hb 13.5 g/dl, Plt 37.5000 / μ l, CRP 0.16 mg/dl

抗寄生虫抗体スクリーニング ウェステルマン肺吸虫 3、他も陽性あり。plate ELISA(宮崎医大)ウェステルマン肺吸虫の抗体が高値。

●右胸水：黄色混濁あり、好酸球 96% LDH 1210、ADA 24.8。

●胸部CT(当院)：左胸水はほぼ消失し、右胸水を認め両肺野に結節-索状の陰影を認めた。

●腹部MRI(当院)：臍左側の皮下に25mm大のT1低信号域、T2淡い高信号を呈する、内部やや低信号の腫瘍を認めた。

●喀痰・便・胸水：明らかな虫体、虫卵を認めなかった。

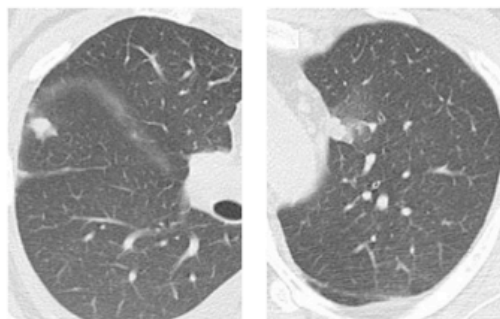
【経過】寄生虫症を疑ったが、喀痰・便・胸水から明らかな虫体、虫卵を認めず、皮下腫瘍を外科的切除した。好酸球を主体とした脂肪組織の炎症を認めたが、明らかな虫体は認めなかった。以上よりウェステルマン肺吸虫症と診断、プラジカンテ

ルを内服し、皮膚の掻痒、胸部の異常影、胸水、好酸球増多は改善した。ウェステルマン肺吸虫症について文献的考察を加え報告する。

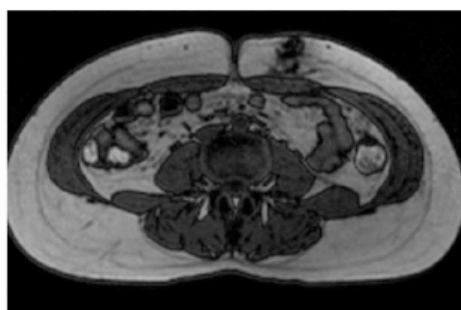
来院時胸部レントゲン



胸部CT



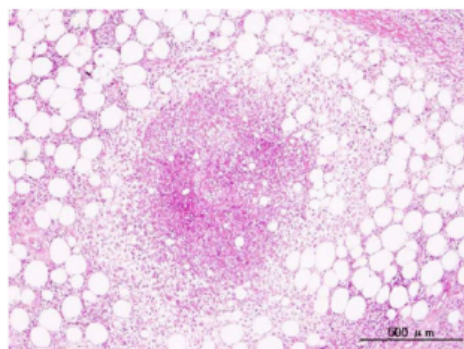
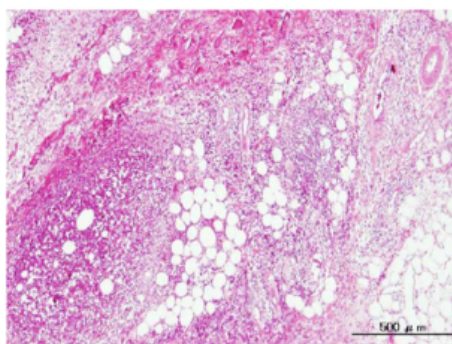
腹部MRI



胸部CT



腹部腫瘍の病理



プログラム 28

糖尿病性足潰瘍に対するマゴットセラピー

○三井秀也

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・心臓血管外科・講師

はじめに 本邦では糖尿病足壊疽の治療として、従来外科的デブリードメン、薬物療法、下肢切断等の治療が選択されてきた¹⁾。しかし海外ではこれに加えマゴットセラピーが行われ、良好な結果が報告されている。我々も 2004 年 4 月からこの治療法を導入し、良好な結果を得ている。今学会で自検例を報告し、この治療の有用性、適応などを報告する。

1 マゴットセラピーとは

1. 歴史 古くはオーストラリアの原住民、ビルマの伝統医が数千年前に潰瘍治療にマゴットを使っていたことが記録されている。1990 年代に難治性潰瘍治療法の一つとして、再び脚光を浴びた。糖尿病壊疽治療に対する有効性のエビデンス発表後²⁾、当治療は確固たる地位を確立している。

2. メカニズム 1) デブリードメン作用、2) 殺菌、制菌作用、3) 肉芽増殖作用が報告されている。

3. マゴットセラピーの実際 クロバエ科の一種ヒロズキンバエ(*Phaenicia sericata*)幼虫が無菌化され使用される。臨床的安全性は、欧米において証明されている。創洗浄後、マゴット 6-8 匹/cm² を創面に置き、周囲をドレッシングで閉鎖する。通常 4-7 日後には蛹となるので、数日おきに新しいマゴットと交換する。約 1 週間で潰瘍の感染はコントロールされ、2 週目には良好な肉芽が見られる³⁾。潰瘍面積の広い症例では、遊離植皮を行うことにより創治癒を促進する。

4. 長所、短所長所は、1) 低侵襲、2) 麻酔が不要、3) 人間の手の届かない深部にまでデブリードメンが可能、4) 特別な器具、器械が不要、5) 禁忌症例がない等である。副作用は 1) 周囲皮膚の刺激、2) 感染進展発見の遅延、3) ヒト蛆症(myiasis)の発生等である。

2 結果 前医にて大切断と診断された糖尿病性壊疽 136 例のうち 116 例 (85%) において 3 ヶ月以内に足潰瘍の治癒を得、救肢できた。

3. おわりに 本治療は、糖尿病性壊疽の局所感染制御、その後の Wound Bed Preparation に対して有効であることが判明した。今後マゴットセラピーは広く普及するものと考えられるが、国内臨床治験例を積み重ね、その結果を詳細に検討し、ひろく啓蒙の必要がある。現在、世界では 30 秒に 1 本の足が、糖尿病関連で切断されていることが報告されているが、足切断患者を一人でも少なくするべく、マゴットセラピーの更なる普及が望まれるところです。

参考文献 1) 科学的根拠 (evidence) に基づく糖尿病診療ガイドライン (2002) 厚生省「科学的根拠 (evidence) に基づく糖尿病診療ガイドラインの研究」班.糖尿病, 2002. 2) Sherman RA. Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy. Diabetes Care. 26(2):446-51. 2003. 3) マゴットセラピー ウジを使った創傷治療: 沼田英治、三井秀也監訳、大阪公立大学共同出版会、2006.

Maggot Debridement Therapy for Diabetic Foot Ulcer
Hideya Mitsui (Okayama University Graduate School of Medicine)

図 1. 症例 1 (76 歳, 男性, 来院時)



図 2. 症例 1, マゴットセラピー 8 回 (4 週間) 後



図3. 症例1, 一年後



図4. 症例2 (65歳, 男性, 来院時)



図5. 症例2, マゴットセラピー4回(2週間)後



図6．症例2，4ヶ月後



プログラム 2 9

Confirming the usefulness of ELISA to detect urinary IgG4 for the diagnosis of lymphatic filariasis in Bangladesh.

○Mohammad S. Samad¹, Makoto Itoh¹, Kazuhiko Moji², Moazzem Hossain³, Dinesh Mondal⁴, Mohammad S. Alam⁴, Eisaku Kimura¹

¹ Department of Parasitology, Aichi Medical University School of Medicine, Aichi, Japan

² Research Institute for Humanity and Nature, Kyoto, Japan

³ Disease Control, Directorate General of Health Services, MOHFW, Dhaka, Bangladesh

⁴ ICDDR, B, Dhaka, Bangladesh

Background:

In Sri Lanka, ELISA to detect filaria-specific IgG4 in urine (urine ELISA) showed high sensitivity and specificity. It also resulted in much higher positive rates than the antigen tests like ICT test and Og4C3 ELISA in community prevalence studies. As urine collection is non-invasive and easy, people prefer it to blood collection, facilitating sample collection. The urine ELISA is expected to serve as an effective tool to detect filarial infection and/or exposure to filarial antigens in the post-Mass Drug Administration (MDA) stage when endemicity levels had reduced significantly. However, this method has not yet been evaluated in Bangladesh. The present study aimed to confirm the efficacy of urine ELISA in the field of Bangladesh. If shown to be effective the urine-based method will greatly facilitate the national program to eliminate lymphatic filariasis in Bangladesh.

Materials and methods:

To determine the sensitivity of urine ELISA, ICT/microfilaria (*mf*) positive individuals were selected as a gold standard. In two endemic areas (upazilas) in Thakurgaon district (northern region of Bangladesh), we examined a total of 750 male subjects aged ≥ 20 years and a few females of the same age group by 100 μ l finger prick blood for circulating antigen with ICT in the day time. The ICT positives were requested to provide urine samples (5 ml) soon after the test. In the same day at night time (from 22:00-0:00), 60 μ l finger prick blood samples were collected from the same individuals for *mf* test.

For specificity study, in non-endemic Feni district (southern region of Bangladesh), 104 males aged ≥ 20 years were examined with ICT for confirmation of negativity, and corresponding urine samples were collected.

The efficacy of detecting infection/exposure to filarial antigen was then compared between ICT test and urine ELISA in the field of Panchagarh district (low endemic area after 5 rounds of MDA in the north most region of Bangladesh). We examined 320 schoolchildren aged 5-11 years with ICT and urine tests.

Findings and discussion:

Out of the total 750 people examined with ICT, 105 subjects were positive. Among the ICT positives, 31 were *mf* positive as well. Almost half (47.6%) of the ICT positives were treated at least once or more. Urine ELISA could detect 89 out of 105 ICT positives (sensitivity 85%); 30 subjects out of 31 ICT and *mf* positives were urine ELISA positive (97%). Out of the 74 ICT only positives, 59 subjects were urine positive (80%).

All of the 104 subjects from non-endemic area were negative with ICT; all corresponding urine samples as well produced negative result by ELISA (specificity 100%).

Out of the 320 elementary schoolchildren, only one was found to be antigen positive; in contrast urine ELISA could detect seven positives. The only ICT positive student however yielded negative result with urine.

In Sri Lanka, urine ELISA showed high sensitivity (95.6%) and specificity (99%). In Bangladesh, the sensitivity was found to be lower (85%). However, a simple comparison cannot be done: the data in Sri Lanka was obtained before MDAs and those in Bangladesh after MDAs when the intensity of infection had been reduced. In fact, 97% of the both *mf* and ICT positive cases (high intensity positives) were urine ELISA positive, suggesting that the ICT only positives in Bangladesh included proportionally more low intensity infections than in Sri Lanka. In the field survey with young children, urine ELISA detected 7 positives compared with 1 by ICT test, which will indicate that the ELISA is more powerful to detect low level infection/transmission.

High patients' compliance, ease in sample collection, satisfactory sensitivity and very high specificity, and higher detection of infection than antigen test in a field study will indicate that the urine-based method can be used, in the post-MDA low endemic stage, as an effective tool to confirm elimination of filariasis, detect undiscovered endemic foci, recent transmission and resurgence of infection.

プログラム 30

バングラデシュにおけるHDLビーズを用いたリンパ系フィラリア症疫学調査

○長岡史晃¹、Mohammad Sohel Samad¹、伊藤 誠¹、高木秀和¹、木村英作¹¹愛知医大・医・寄生虫学

[背景]

リンパ系フィラリア症は蚊によって媒介される寄生虫症で、現在世界規模の撲滅計画が進められているが、依然として世界中で数千万人が感染していると推定される。これらの検査法には末梢血中のミクロフィラリア検出やICT診断キットによる血中抗原検査などがある。前者は虫体が検出されれば確実に陽性となるが、夜間採血が必要なうえ感度も低い。後者では操作は非常に簡便であるが1検査当たりのコストが比較的高価になるのが難点である。また、いずれの方法も血液を検体とするため検体採取には痛みが伴い、無症状の住民から検体を得ることはしばしば困難である。そこで本教室では非身襲的に採取ができる尿を検体とする診断法の開発行ってきた。これまでに尿を検体に用いるELISA法および高比重ラテックスビーズ（HDL）法を開発し、感度・特異度共に優れていることを報告した。今回バングラデシュのフィラリア症流行地からの尿検体を用いて、その有効性を調べたので報告する。

[材料と方法]

バングラデシュ西北部のタクルガオン地区のフィラリア症流行地で集められた尿425検体を用いた。そのうち320検体はこれまでに5回の集団投薬が終了しているかつての流行地域の小学校の児童からの尿であり、残る105検体はフィラリア抗原検出用ICT診断キットで陽性と判定された住民からの尿検体で、105検体については同時にミクロフィラリア検査も行った。また、フィラリア症非流行地域である南東部のフェニ地区でも104検体を採取した。集められた検体をHDL法でフィラリアリコンビナント抗原SXP-1に対する特異的IgG4抗体価を測定した。

[結果と考察]

ICT診断キット陽性かつミクロフィラリア陽性者31例中HDL法で29例（93.5%）が陽性となり、ICT診断キット陽性でミクロフィラリア陰性者では74例中54例（73.0%）が陽性となった。合計で105例中83例（79.0%）が陽性という結果が得られ、非流行地の検体104例ではすべてHDL法陰性となった。児童から集めた320例では11例（3.4%）が陽性となったが、いずれも抗体価は低いものであった。これらの結果よりHDL法がリンパ系フィラリア症の疫学調査に有用であることが示唆された。

プログラム 3 1

日本における蚊媒介疾病流行の可能性について（1）マラリアとフィラリア症

○上村 清¹

¹ 丸三製薬(株)研究室

近年の地球温暖化，異常気象，自然災害、グローバリゼーションなどの環境変化によって蚊媒介疾患が日本でも流行するのではないかと危惧されている．媒介蚊の発生量や分布状況，疾病流行状態などを考え合わせ，今後流行の可能性について述べる．

1) マラリア

マラリアは、日本各県に恐らく太古の昔から戦後数年までは流行していて、福井県、滋賀県、および沖縄県に患者が多かった。患者の薬剤治療、患者宅の殺虫薬残留噴霧、衛生環境の向上などによって、戦後数年で土着マラリアが消滅し、南方からの復員者による戦後マラリアも終息して、国内での蚊を介しての感染は 1960 年以降認められていない。マラリアは、最近でも、熱帯・亜熱帯を中心に、年間罹患患者 3～5 億人、死者 100～250 人に及ぶ世界有数の疾患で、流行地で感染してくる輸入マラリア患者が年間 100 人を超える。主要媒介蚊のシナハマダラカ、オオツルハマダラカは、水田、休耕田、灌漑溝、湿地、原野水溜などに、コガタハマダラカは小川淀みや湧水溜に発生する。環境改変などで、シナハマダラカは 1980 年以降国内で激減していて、他種媒介蚊の発生量は多くない。余程の大災害によって、媒介蚊発生源が急増し、生活水準も低下するような事態となれば別だが、昨今の媒介蚊の発生状況であれば、国内でのマラリアの流行は起こりがたいと思われる。

2) フィラリア症

バンクロフト糸状虫症は、青森以南に恐らく太古の昔から存在し、九州南部など南日本で流行していた。1960 年代の厚生省の集団検査・DEC 剤投薬による大がかりな駆虫キャンペーンによって国内では根絶された。マレー糸状虫症は八丈小島に存在していたが、無人島となり、患者はいない。両種あわせて今なおインド、アフリカなど世界でほぼ 1 億人が感染していると推定されているが、WHO が中心となって根絶計画が進行中である。主要媒介蚊のアカイエカ、ネッタイイエカは、下水溝淀みなど汚水溜から主に発生するが、国内では暗渠化や下水道整備が進行し、人家の防虫網戸や密閉構造の普及で吸血されにくくなってもいて、激減している。トウゴウヤブカも海岸岩盤汐溜に発生がほぼ限局されている。従って、今後、国内で再興することはないと思われる。

イヌ糸状虫症は、ペットの犬猫で流行しているが、主要媒介蚊アカイエカの激減と、イベルメクチン駆虫などで、感染率は激減していると思われる。従って、人で

の感染例も少なくなっていると思われる。

Possibilities of epidemical mosquito-born diseases in Japan (1) malaria and filariasis,
Kamimura, Kiyoshi.

プログラム 32

2010年1月～9月の京都における裂頭条虫症の発生と感染源であるサケ・マス類における幼虫の寄生状況

○山田 稔、大西弘太郎、手越達也、有菌直樹
京府医大・院・寄生病態学

日本海裂頭条虫症は、海産のサケ・マス類を感染源とし、海産魚類を好む日本人の間でもっとも多く見られる条虫症の一つである。2010年5月の日本寄生虫学会総会(旭川)において、2009年までの同症の疫学的動向について報告したが、今回2010年9月までの症例を加えて解析したので報告する。2009年1月～12月は20例であったが、2010年1月～9月までに9例の裂頭条虫感染例を経験し、遺伝子解析により8例が日本海裂頭条虫、1例が広節裂頭条虫(輸入例)と同定された。1998～2006年と2007～2010年の2群に分けて年度別に比較したところ、近年増加傾向にあり春～初夏にかけて患者が多いことがわかった。一方年齢分布を比較したところ、年度間には有意差を認めなかった。一方サケ・マス類における幼虫の寄生状況は、今年3～8月にかけてサクラマス6尾、シロザケ(時サケ、トキシラズ)27尾、カラフトマス6尾を調べた結果、シロザケ27尾中7尾に幼虫の感染が見られた(背鰭直下の筋肉内および尾部背側直下の筋肉内)。7尾中3尾が1虫体寄生で、2尾が2虫体寄生であったが、残り2尾のシロザケではそれぞれ6～7虫体が寄生していた。これら幼虫は遺伝子解析の結果全て日本海裂頭条虫と同定された。春季に北海道東岸で捕獲されるサケ(通称トキシラズ)はロシアの河川に回帰するとの研究報告があり、この時期のシロザケが感染源として危険ではないかと考えられた。サケ・マス類における寄生率の変化、消費量の変動等、多様な要因が日本海裂頭条虫症の発生に関与していると考えられるが、近年の同症の増加の疫学的背景はまだ明らかではない。

プログラム 3 3

日本における回虫症：ブタ由来回虫がヒトに感染しているか？

○有菌直樹，芳村悠太，遠坂直樹，山田 稔，手越達也，大西弘太郎，内川隆一
京都府立医大・寄生病態学

ヒトに感染している回虫 (*Ascaris lumbricoides*) とブタに感染している回虫 (*Ascaris suum*) は形態学的に区別がつかない。しかし1990年代後半からの研究により，ブタ由来回虫とヒト由来回虫は，特にrDNAのITS1領域の塩基配列によって，ある程度区別可能であることが明らかとなった。面白いことに，ヒトにもブタにも回虫の多い地域においては，ヒトとブタの間でのcross infectionはほとんど見られないうが，ヒトにおける回虫が著しく減少している北米やデンマークでは，ヒトから得られた回虫成虫の大半がブタ型の遺伝子型を有しており，ブタ由来回虫のcross infectionが強く疑われるとの研究報告がなされている。ヒト回虫症が著しく減少している日本においても，ヒト回虫症が同様にブタ由来回虫のcross infectionによって生じているか否かを明らかにするために小規模な研究を行った。

材料と方法：1991年から2010年の間に得られたヒト由来の回虫成虫9個体とブタ由来の回虫成虫9個体からDNAを抽出しITS1領域をPCR増幅し塩基配列解析を行った。

結 果：ヒト由来回虫9個体中6個体がヒト型，3個体がブタ型の遺伝子型を示し，ブタ由来回虫9個体は全てブタ型の遺伝子型を示した。ヒト由来回虫9個体の内3個体は1991年2001年，2002年に得られ，これらはヒト型であった。残りの6個体は2006年から2010年の間に得られたが，これらの内2個体はボリビア及びインドに比較的長期旅行していた患者から得られものでヒト型であった。2006年から2010年の間に得られた残り4個体の患者は回虫症流行地への旅行歴がなく，これらの内1個体がヒト型，3個体がブタ型であった。

考 察：解析数が少ないものの上述の結果から，日本におけるヒト回虫症は，ヒトーヒト間でサイクルを維持しているendemic area型から，ブタ由来回虫のcross infectionが推測されるnon-endemic area型に変化しつつあると考えられた。ブタ由来回虫がヒトで成虫にまで発育しうすることは，いくつかの実験感染で明らかにされている。一方，ブタ由来回虫により幼虫移行症が生じることもよく知られている。ブタ由来回虫卵がヒトに感染した場合の体内発育動態を決定する要因については不明であり，今後明らかにする必要がある。

プログラム 3 4

植物由来抽出物を用いた寄生蠕虫ホスファージェンキナーゼに対する特異的活性阻害に関する検討

徳弘慎治¹、長瀧 充¹、朴 炫宣²、岡田 稔²、宮村充彦³、牧 純⁴、宇田幸司⁵、鈴木知彦⁵、○吾妻 健¹

¹高知大・医・環境保健学、²高知県立牧野植物園・資源植物研究センター、³高知大・医・薬剤部、⁴松山大学・薬・感染症学、⁵高知大・理・生化学

ホスファージェンキナーゼは動物のエネルギー代謝において重要な役割を果たす酵素群である。ヒトを含む哺乳動物にはクレアチンキナーゼが唯一存在するが、寄生虫などの無脊椎動物ではアルギニンキナーゼをはじめ様々なホスファージェンキナーゼが分布する。各ホスファージェンキナーゼは、極めて高い特異的基質認識を有する事から、我々は、各々に対する特異的阻害物質が存在する可能性があるものと考えている。我々はこれまでに、いくつかの寄生蠕虫のホスファージェンキナーゼcDNA遺伝子のクローニングに成功し、Exon/Intron構造を含めた遺伝子構造の解析や組換え酵素タンパク質の代謝効率パラメータなどの特性の解析について調べてきた。今回、寄生蠕虫のホスファージェンキナーゼを特異的に阻害する物質を探索する目的で、高知県に自生する植物の抽出物を用い本酵素に対する阻害作用を検討した。

本研究では、高知県立牧野植物園が有している 70 種の植物を用いた。抽出法は、メタノールを用い、植物の葉、茎、樹皮などから 110 の抽出分画を得た。これらの抽出分画を用いて、我々が作成した 3 つの組換え型酵素、マウス筋肉型クレアチンキナーゼ、豚回虫アルギニンキナーゼ及び日本住血吸虫 2 ドメイン型タウロシアミンキナーゼについて、各酵素の活性を測定した。その結果、各ホスファージェンキナーゼの酵素活性に対して阻害効果を示した興味深い抽出物が見出されたので報告する。

教育講演 4

プログラム 35

アジアの大学間協力による公衆衛生分野の人材育成

○土居弘幸¹¹岡山大・医・疫学・衛生学

新型インフルエンザをはじめとする新興・再興感染症など、現在アジアで深刻な医療問題に対する取り組みにおいて、課題探求及び課題解決、両面の能力を併せ持つ研究指向型人材育成が、現在日本の医学現場において必要とされている。また、日本における現代医学・医療は、専門性が細分化し、慢性疾患を中心とする西洋医学中心のものとなっている。これまで欧米への留学や欧米との国際共同研究は活発に行われてきたが、欧米がアジアから多数の留学生を受け入れ、共同研究、人材育成を行っていることに比し、アジア諸国との学際的交流が乏しく、アジアのニーズに応える「アジアの視点」が不十分であった。こうした状況を踏まえ、あらためて様々な専門分野が協力し、そしてアジア諸国が連携した、アジアのニーズに応える国際保健を実践する人材育成が必要となっている。

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科は、これまで実践してきた国際的な学際活動を集約し、平成 19 年度、文部科学省大学院教育改革支援プログラム「ユニット教育による国際臨床研究の人材育成（－アジア諸国と連携した国際医療・保健推進と人材育成プログラム－）」のプログラムの中で、国際保健に携わる人材養成のための教育・研究の基盤作り、及びその人材育成に取り組み、その成果を本報告書にまとめる。

1. 基本戦略

○ユニット教育

共通の研究テーマのもとに専攻分野を超えた研究者によるチーム（ユニット）を形成し異分野との連携により、効果的な研究体制を整える。

○疫学教育の充実

Evidence に基づく公衆衛生活動の基本は疫学であり、政策立案の根拠となるものはすべて疫学がその意義を与える。日本の医学教育で弱点となっている疫学講義を充実する。

○アジアの大学、WHO との連携

新興・再興感染症、災害時等の緊急援助、環境汚染評価を中心テーマとしインド、タイ、インドネシア、ミャンマーの主要な大学、並びに WHO との連携による実践的な教育・研究フィールドを開拓し、大学院教育を充実する。

2. 大学院教育の充実と実質化

平成 20 年度から国際医療保健コース(修士課程 2 年間)、国際臨床研究コース(博士課程、4 年間)を開設した。これまでの 2 年間で、博士課程 10 名、修士課程 4 名の入学者を迎え、平成 20 年度以前の大学院生を加え実践的教育に取り組んだ。

謝辞

第66回日本寄生虫学会西日本支部大会の開催にあたり、多くの方々より多大なるご協力を賜りました。ここに厚くお礼申し上げます。

平成22年11月

第66回日本寄生虫学会西日本支部大会
大会長 綿矢有佑

第66回日本寄生虫学会西日本支部大会プログラム・抄録集

発行 2010年10月

編集 岡山大学薬学部医薬品情報学講座
第66回日本寄生虫学会西日本支部大会事務局
〒700-8530 岡山市北区津島中1-1-1
TEL: 086-251-7976 FAX: 086-251-7974

印刷 広和印刷株式会社
〒700-0942 岡山市南区豊成3-18-7
TEL: 086-264-5888 FAX: 086-264-1525