

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Laboratory and Clinical Practice (2007.12) 25巻2号:74～83.

エキノコックス症に関する診断法の進展

伊藤亮, 迫康仁, 中尾稔, 中谷和宏

第17回 春季大会記録

特別講演

エキノкокクス症に関する診断法の進展

旭川医科大学寄生虫学講座

伊藤 亮, 迫 康仁, 中尾 稔

同 動物実験施設

中谷 和宏

はじめに

北海道の地方病であるエキノкокクス症(多包虫症)と輸入症例が増加しているエキノкокクス症(単包虫症)に関する診断法, 特に血清診断法, 遺伝子診断法の進展, 誤診のない正確な確定診断基準の適用, 国内での現状, 問題点について概説する.

1. エキノкокクス症(多包虫症と単包虫症)とは何か

a. 世界における流行, 分布, 生活環

エキノкокクス症を惹き起こす寄生虫として公衆衛生学的に重要なものは, 北半球で汚染地域が拡大し北海道の地方病として知られている多包虫症を惹き起こす多包条虫(*Echinococcus multilocularis*)と, 全世界の畜産地域に蔓延している家畜ならびにヒトに単包虫症を惹き起こす単包条虫(*Echinococcus granulosus*)の2種類である. 世界地図(図1)に示すようにエキノкокクス症は地球規模で環境汚染, 流行域が拡大し, 患者数が増えている難治性の寄生虫病である. 慢性の肝疾患であり, 早期診断, 早期治療が推奨されて久しいが, 現実には関係各位の努力にも拘らず信頼性の高い診断法の開発, 導入が遅れている疾患である(WHO 2001; Craig, et al. 2007). WHOは2005年に寄生虫であるサナダムシの幼虫がヒトに寄生して重篤な病害を惹き起こすエキノкокクス症(echinococcosis)と囊虫症(cysticercosis)を正式に

狂犬病(rabies), 炭疽(anthrax), ブルセラ病(brucellosis)などととも, Neglected Tropical Diseases のリストに加えた.

1) 単包虫症(cystic echinococcosis, CE)

エキノкокクス症のうち, 単包虫症はヒポクラテスの時代から腹に水が溜まる奇病として知られている. ヒトへの感染源となる虫卵を排泄し, 環境を汚染する終宿主動物はイヌ科動物, 特に牧羊に用いられてきたイヌである. 主に草食動物, ならびにヒトを含む雑食動物の肝, 肺で幼虫(包虫と呼ばれる大きな幼虫の集合体: 単包条虫の幼虫を単包虫, 多包条虫の幼虫を多包虫と呼ぶ)が発育する. 単包虫は嚢胞性の病巣が形成され, 特徴的な画像所見から比較的診断は容易である(図2). 大きくなるとサッカーボール大になる. このような症例では病巣が破裂してアナフィラキシーショックで死亡する例が多い. ヒトならびに経済動物への感染源になる単包条虫はおおよそ5mm前後の糸状の小さなサナダムシで, 通常無数の成虫がイヌの小腸に寄生している.

2) 多包虫症(alveolar echinococcosis, AE)

基本的に野生動物(キツネとノネズミ)間で感染が成立している(図3). キツネの生活圏にヒトならびにイヌが侵入し, イヌからヒトへの感染が深刻な地域が少なくない. 中国など多包虫症が大流行している国ではイヌからヒトへの病気の伝播がキツネからヒトへの伝播よりも高いと報告されている(Craig et al. 2000). 国内では北海道の地方病である. 最初の人症例は宮城県(松島)から報告さ

エキノコックス症に関する診断法の進展

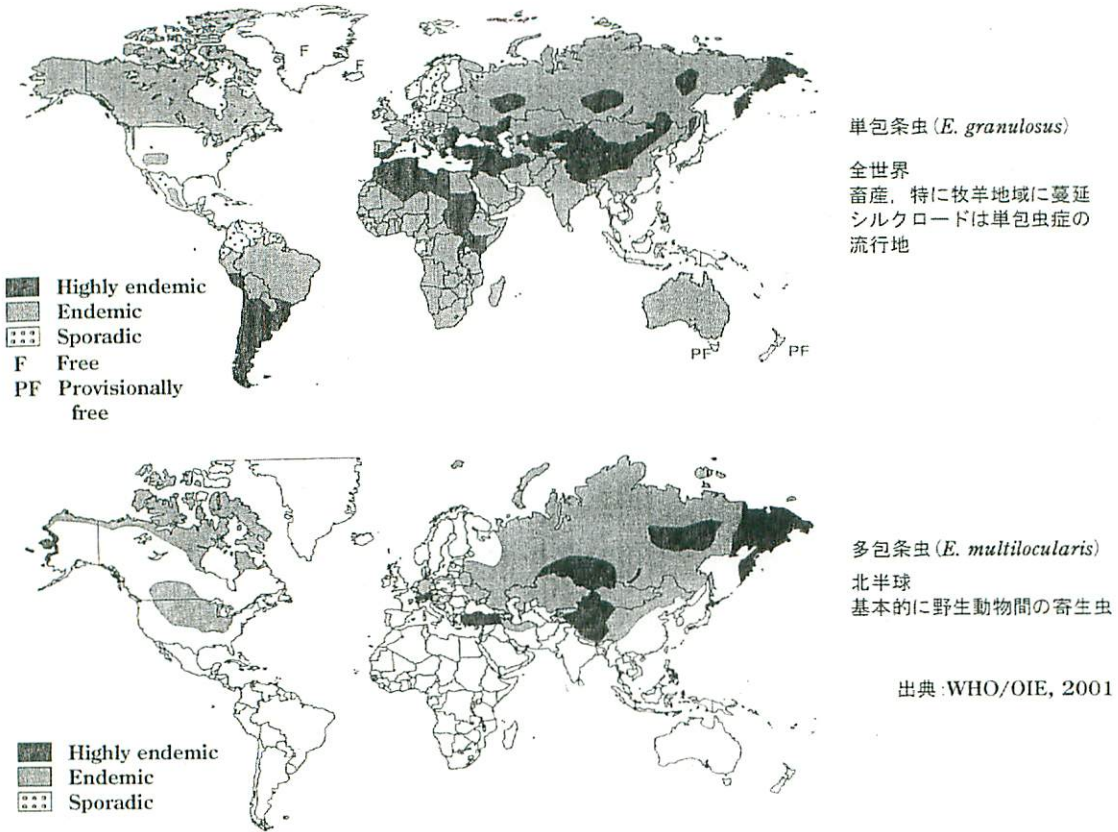


図1 公衆衛生的に重要なエキノコックス症、単包虫症と多包虫症の世界における分布域

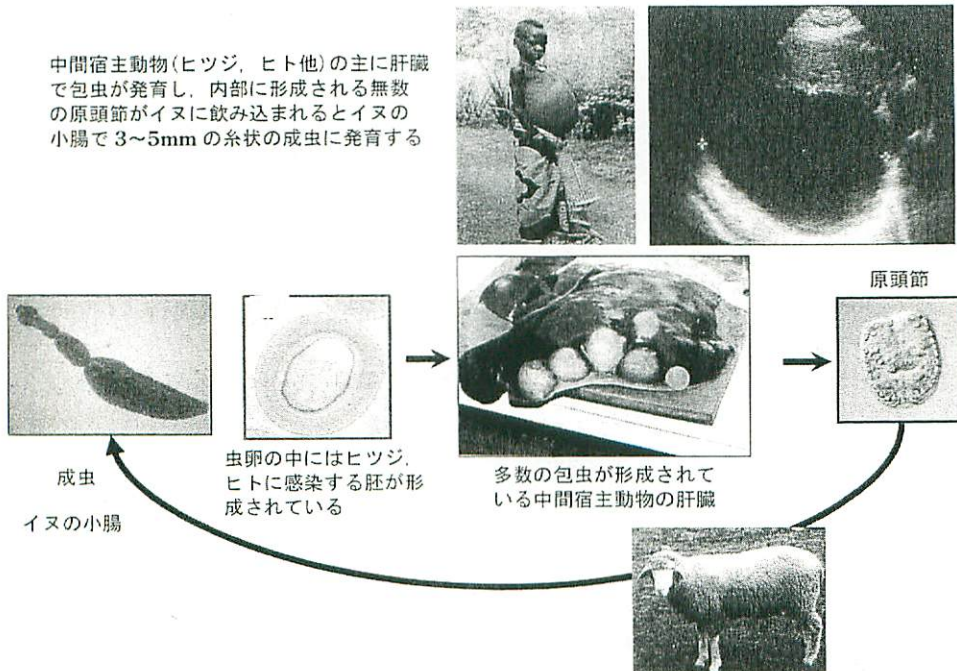


図2 単包条虫の生活環

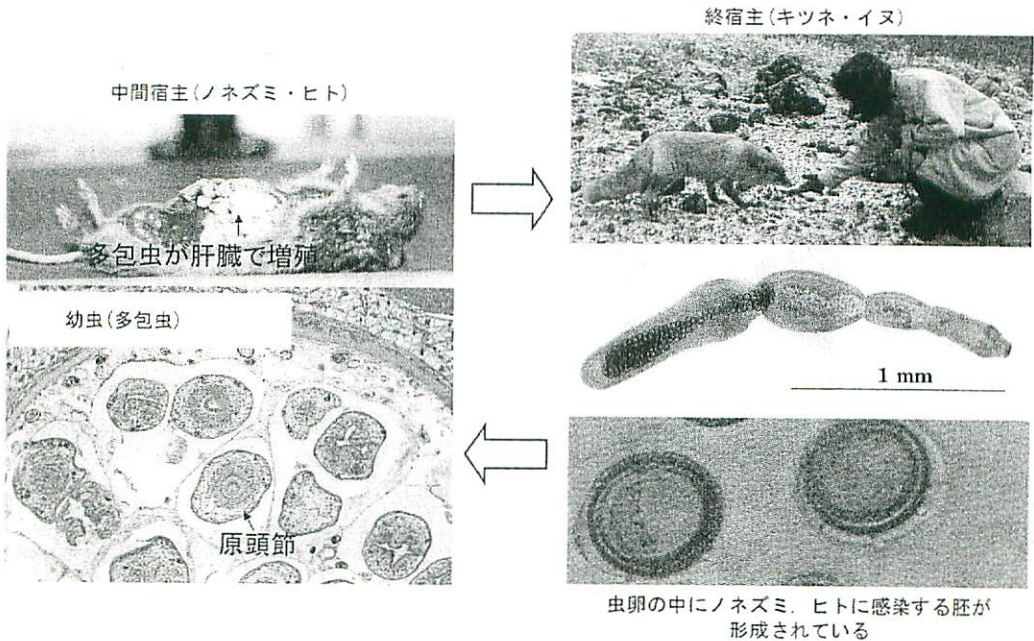


図3 多包条虫の生活環

れているが、第2例以降は北海道であり、礼文島住民であった。千島列島から1920年代に礼文島に持ち込まれたキツネが礼文島における大流行を惹き起こしたと結論付けられている。その後、キツネの密猟によりキツネが根絶され、汚染源がなくなり、自然消滅したと結論付けられている。その後、行政によるイヌ、キツネの持ち込み禁止、上水道の完備、啓発教育などを通して、礼文島におけるエキノコックス症は完全に終息した(土井他 2000, 皆川 1999)。一方道東地区における1960年代からの流行拡大は国後島その他から厳冬期に汚染キツネが流氷に乗って持ち込んだと推定されている(Satoh et al. 2005)。現在、道内におけるキツネの感染率は北海道立衛生研究所によって毎年実施されてきているキツネの死体解剖調査による成虫確認検査では30~60%の範囲で増減しているようである。中国と同じ条件下で判断すべきではないが、キツネとイヌの検査体制の強化が望まれる。キツネにおいては毎年剖検し、寄生虫自体を確認しているため100%正しいが、イヌにおける検査では成虫が確認された事例は何例あるのか? 虫卵、遺伝子確認だけで、エキノコックスが確認されたという結論は、状況証拠からだと

え限りなく黒に近いと推定されてもあくまでも事実確認無しの憶測であり、稀な症例であればあるほど事実(成虫)確認に基づく情報発信が不可欠であろう。遺伝子確認にも落とし穴があり、イヌから2~3mmの糸屑状の成虫を専門家が確認した報告以外100%間違いのない事実確認検査法がないのであるから、すべて憶測の域を出ていないと結論せざるを得ない(伊藤 2005)。正確な事実確認に基づく情報発信が求められている。

b. 術前診断の現状

多包虫症は肝細胞癌との鑑別が必ずしも容易でなく、何らかの症状が出てからでは15年以内に死亡すると推定されている現在最も致死的な寄生虫病のひとつである。画像診断により何らかの異常所見が見つかる場合(図4, 5)に、居住歴、旅行歴などから多包虫症を疑診する場合に信頼性の高い血清診断法(スイス、ベルン大学のEm2^{plus}-ELISAならびに旭川医大のEm18イムノプロット)を用いる確認検査がWHOによって推奨されている(WHO 2001; Ito and Craig 2003; Ito et al. 2007)。エキノコックス症全般にわたる話題については別の総説等を参照していただきたい(Ito et al. 2003a, 2003b; 伊藤 2001, 2005, 伊藤, 石川

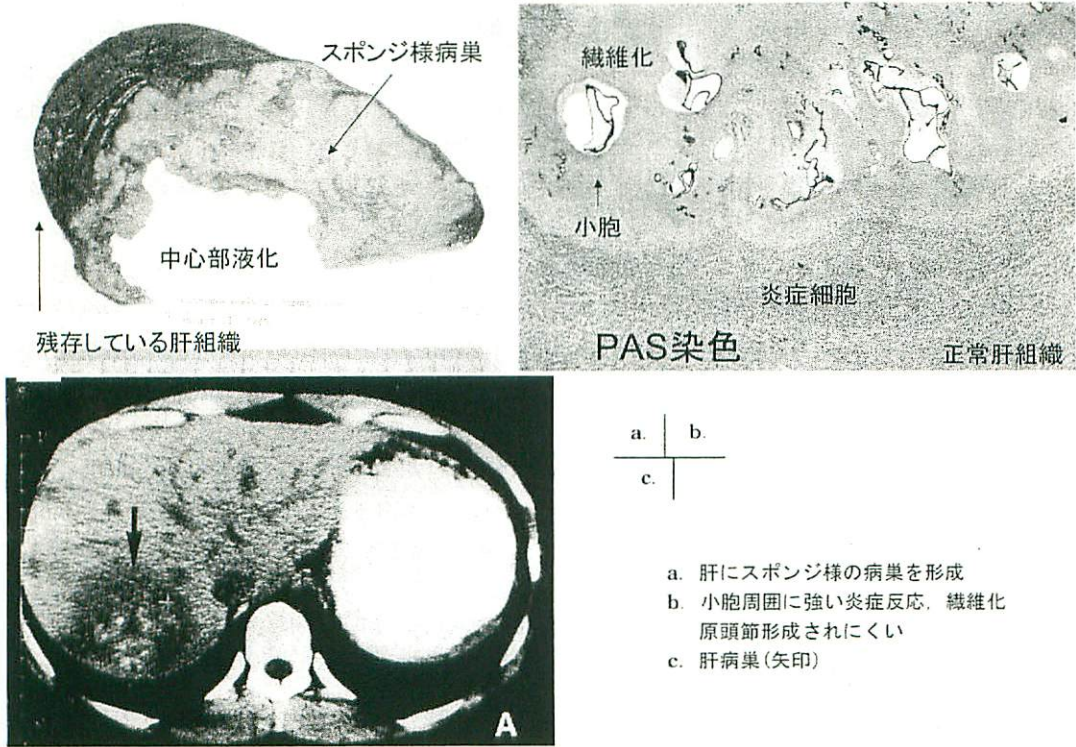
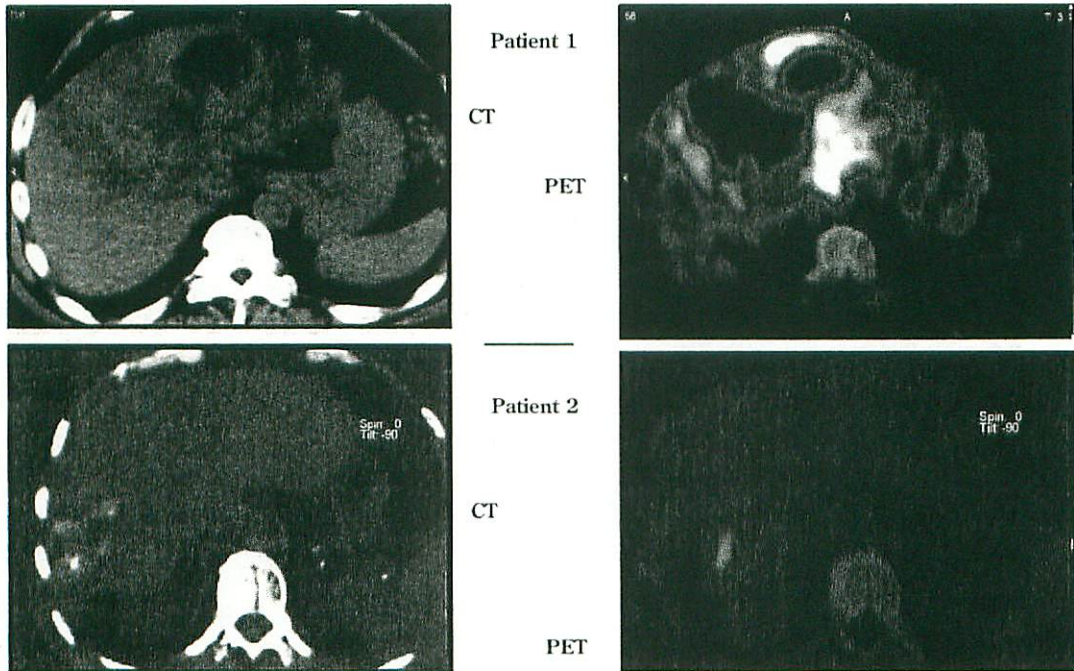


図4 多包虫症の肝病巣と画像



from Bresson-Hadni

図5 多包虫症におけるCTとPET

2002, 2003). エキノコックス症に関する分子から診断, 治療, 疫学までを網羅した世界における第一線の研究者による最新の知見がまとめられている (Ito et al. 2006).

2. エキノコックス症に関する血清診断法

最近の血清診断法の進展はエキノコックス症, 特に多包虫症に関する血清診断法の信頼性を100%近くまで高めている. 10年前とは隔世の感がある (Ito and Craig 2003; Ito et al. 2007).

a. 多包虫症

1) 多包虫症: 過去 20 年の血清診断法開発の歴史

1990 年前後に, スイス (Vogel et al. 1988), ドイツ (Frosch et al. 1991), オーストラリア (Hemmings, McManus 1991), 日本 (Ito et al. 1993a) の研究グループがそれぞれ別個, 独立に血清診断法の研究を展開し, 分子量を異にする抗原を拾い上げ, EmII/3, Em10, Em4, Em18 と別々の名前をつけ論文を発表した. 伊藤はこの成績を中国, 海口市で開催された国際熱帯医学会 (1990 年) で発表した. それが契機になり当時, 中国でエキノコックス症の研究で国際的に知られていた重慶医科大学の Liu YueHan (劉約幹) 教授との共同研究を展開することになった (Ito et al. 1993b). その後の研究から, 上記の 4 グループが拾い上げた抗原は同一の ELP (ezlin-like protein), すなわちヒトの ERM (ezrin-radixin-moesin) 蛋白質に非常に相同性が高い蛋白質であることが判明した. この蛋白質をコードしている遺伝子 (*elp*) の全長を決定したのはドイツのグループであった (Brehm et al. 1999). 旭川医大が拾い出した Em18 はこれらの同一蛋白質の中で最も分子量が小さく, システインプロテアーゼによる分解産物であることが迫康仁助教の研究から判明した. しかし, 非常に面白いことに図 6 に示すように, Em18 はヒトの Moesin 蛋白質とアミノ酸配列の相同性が最も低い部分に相当することが判明した. これはヒトの疾患である多包虫症を血清学的に鑑別するに当たりヒトの蛋白質との交差反応が最も少ないことが期待されることを意味し, 診断抗原としての有用

性が非常に高いことが理論的に裏付けられた (Sako et al. 2002). さらに興味深いことに, Em18 を用いる血清診断法では病態の悪化が予測される活性病巣を有している患者の拾い上げに役立つことであった (Ito et al. 1995, 1999). 遺伝子組み換え Em18 を用いる新しい血清診断法を確立し, 欧米 [CDC (米国), サルフォード大学 (イギリス), フレンチコムテ大学 (フランス), ベルン大学 (スイス), ウルム大学 (ドイツ)] と共同研究を展開した. バイアスを除くため, ブラインドテストサンプルとして各国の研究者から血清を送付してもらい, 旭川医大で開発した RecEm18-ELISA, RecEm18-IB を施行し, 報告し, 海外の研究者からの解析結果に基づき論文作成が行われてきている. 本年フランスの研究グループから発表された論文で, フランスで市販している多包虫抗原を用いるイムノプロット (IB) 法 (1993 年に旭川医大グループが発表した方法論を用いてキット化) ならびに Gottstein 教授の遺伝子組み換え抗原を用いる Em2^{plus}-ELISA 法による多包虫症検出率は共に 80%, 旭川医大の RecEm18-IB の検出率は 96% と報告された (Bart et al. 2007). 最近, Gottstein 教授のグループは別の抗原候補を拾い上げ, エキノコックス症患者をほぼ 100% 拾い上げることができると強調している (Muller et al. 2007). しかし, この抗原を用い, スイスと日本で相互にブラインドテストを試みた結果, 新規の抗原は多包虫症と単包虫症を区別することができないことが判明している (Ito et al. 2007).

2) 多包虫症: 血清診断法の現状, 患者確認, 予後判定, 流行地域住民検査

RecEm18 を用いる患者確認検査: 血清検査法は基本的に多包虫症患者確定に必要な検査として開発されてきた. 上記のようにスイス, 日本で開発された遺伝子組み換え抗原を用いる検査法は多包虫症患者の 80~96% の患者を一度の検査で確認できる精度に達している.

予後判定検査: 多包虫症では早期に診断し, 早期に病巣を外科的切除をすることが完治可能な唯一の治療法として今日まで推奨されている. 外科

エキノコックス症に関する診断法の進展

Moesin	1	-----MPKTI SVRVTTMDAELEFATQPNITGKQLFDQVVKTIGLREVWFFGLQYQDTKGF
ELP	1	MLKRSKNKTNKVRVTTAESQLEFEMQKGS LGQDLFDQVVRTIGLREVWYFGI QYIDKDGN
Moesin	56	STWLKLNKKVTAQDVRKESPLLFKFRAKFYPEDVSEELIQDITQRLFFLOVKEGINDDI
ELP	61	PTFLRLDKKISSNDFAPGSEYDFKFMVKFYFENVEEELIGTCTITHFYLVQVKSIDIMSGKI
Moesin	116	YCPPEITAVLLASYAVQSKYGDINKEVHKSGYLADGKLLPQRVLECHKLNKIQWEERIQVW
ELP	121	YCPITITAVLLASYACVAKYGPYDPQSCP KSLPIDRLITSK-----EQYDQTD EQWYERIIAY
Moesin	176	HEHHRGMLREDAVLEYLKIQADLEMYGVNYFSIKNKKGSELWLVGDALGLNIYEQNDRLIT
ELP	178	YKDRHDMRSREDAMVQYLQIQADLEMYGVETFNINKNKGTSLVLVGDALGLSIYEPGNLLD
Moesin	236	PKIGFPWSEIRNISFNDKKFIKPIDKKAPDFVIFYAPRLINKRILALCMGNHELYMRRR
ELP	238	PKIGFPWSEIRNLSFNHDKKFIKPADKSAKEFFFLVEKSKINKRILALCTGNHELYMRRR
Moesin	296	KPDTIEVQQMKQAQAREEKHQKQMERAMLENEKKREMAEKEKEKIEREKEELMERLKOIE
ELP	298	KSDSIEVQQMKIQAKEERELKEAERQRLKEEELQRMENE-----QKLELR
Moesin	356	EQTAKAQQELEEQTRALELEQERKRAQSEAEKLAKEERQEAEEAKEALLQASRDQKKTQE
ELP	344	AQMVKEKESDLADMKNKLSAYESKIAELEMLLQQRERAEESLQKSOAKLAEMNAKLYEETA
Moesin	416	QLALEMAELTARISSQEMARQKKESEAVEWQQKAQMVQEDLEKTRAEALKTAMSTPHVAEP
ELP	404	ASAEARDLMAQRDELQREVEAQKVAMAKKEAEKAQAEALRMAEKHDAKHKSQVMSG
Moesin	476	AENEQDEQDENGAEASADLRADAMAKDRSEEEERTTEAEKNERVQKHLKALITSELANARDE
ELP	464	DAASQDDESE-----AKELEVIPNVARTEESAVAVSVKNE TLGKLANAKMELSSTRDQ
Moesin	536	SKKTANDMIFAENRMLGRDKYKTLRQIRQGNTKQRIDEFESM
ELP	518	SKMRDIDRRHEYNVREGNDKYKTLRNIRKGNIMCRVECFESM

図6 ヒトのERM (Moesin) とエキノコックス ELP 蛋白質におけるアミノ酸配列の相同性
斜体文字の箇所が Em18 構成アミノ酸配列部分

的切除後の予後モニタリング法として旭川医大の ReEm18-ELISA 法が国際的に高く評価されている (Fujimoto et al. 2005; Bresson-Hadni et al. in prep; Kern et al. in prep). すなわち, 病巣が完全に切除された患者では Em18 に対する特異抗体が半年以内に著減し, 陰転化することが判明している.

RecEm18 抗原を用いる流行地域における住民検診: 現在 WHO エキノコックス症ガイドライン作成が進行中である. 作成に当たり議論された項目は上記の血清検査法が流行地における住民検診に役立つかどうかに関する評価であった. 旭川医大のグループは 2000 年から米国国立衛生研究所 (US-NIH) 研究費「中国における多包虫症伝播生態, 疫学研究」(代表, サルフォード大学 P.S. Craig 教授, 現 WHO Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE) 代表) 国際共同研究

において血清診断, 血清疫学, 遺伝子診断, 遺伝子疫学の責任者として参加してきている. 中国人研究者を旭川医大に招聘し, 技術指導をした上で, 中国各地で採血された血清を解析する体制である. その結果, 流行地である四川省 (Sichuan), 青海省 (Qinghai), 新疆ウイグル自治区 (Xinjiang), 寧夏自治区 (Ningxia) における住民検査成績から, 旭川医大の血清検査法が単包虫症と多包虫症両患者を非常に高い感度と特異性で拾い上げ, 鑑別できていることが確認されてきている.

旭川医大で開発された多包虫症血清診断法が国際的に高く評価され, ヨーロッパ, 中国で患者の確認, 地域住民検査に利用され始めている. スイス, 中国では遺伝子組み換え Em18 の作製を始めている. フランスでは旭川医大が 1993 年に発表した寄生虫自体をすりつぶして作製した抗原を用いるイムノプロットキットを市販している.

3) 多包虫症：Em18 抗原をコードする遺伝子の多型解析

多包虫症は北半球で汚染地域が拡大しており、患者の増加が懸念されている。北海道における若年層の患者増加の確認は今後の感染動向を窺う意味でも重要である。上記の米国立衛生研究所研究費ならびに文科省科学研究費等を用い、これまで知られているエキノコックス属条虫全種類を含め (Nakao et al. 2007)、北半球で多包虫症の流行地で採取された多包虫ならびに多包条虫サンプルのミトコンドリア遺伝子ならびに *elp* 遺伝子の多型解析が旭川医大で中尾稔准教授を中心に展開されてきた。その結果、これまで調べられたすべての多包条虫サンプルで *elp* 遺伝子に関する多型は見つかっていない。これは Em18 を用いる血清診断法が北半球の流行地 (アメリカ, アジア, ヨーロッパ) 全域で利用できることを意味している。

b. 単包虫症

1) 単包虫症に関する血清診断法

単包虫症に関する血清診断法の研究の歴史は多包虫症よりもはるかに長い。しかし、10 年前までの教科書に書かれていた方法は現在どれも用いられない時代である (Ito 2002; Ito and Craig 2003; Ito et al. 2007)。現在、世界的に評価されている診断抗原は Antigen B と呼ばれる分子量約 160kDa の hydrophobic ligand binding protein (HLBP, リポ

蛋白質) である。この高分子蛋白質は約 8kDa のサブユニット (Ag B/8SU) の重合体であることが知られ、AgB/8SU が単一ではなく、複数の異なる性状を持つ分子から構成されていることが判明してきている。旭川医大グループは単包虫症 AgB/8SU の遺伝子解析により、これまで他の研究者から報告されてきた AgB/1-4 以外に新規の AgB/5 も確認し、これら 5 種の AgB/1-5 がエキノコックス条虫の発育段階に特徴的に発現していることを報告した (Mamuti et al. 2006)。これらの AgB/1-5 遺伝子は単包条虫のみならず多包条虫でも殆ど 100% 相同の遺伝子として保存されていること (Mamuti et al. 2007)、ヒトにおける単包虫症血清診断には AgB/8-1 が最も有効で、約 80~90% の患者の確認に役立つことが判明している (Mamuti et al. 2004; reviewed by Ito et al. 2007)。単包虫症に関する血清診断では病態と抗体検出率に関する詳細な研究が現在イタリア、日本の間で始まっている。遺伝子組み換え AgB (RecAgB/8/1) を用いる ELISA, IB がこれまで包虫液から精製してきた AgB を用いる診断法よりも信頼性が高いことが示唆されている (Brunetti et al. in prep)。

c. RecEm18 ならびに RecAgB/8/1 を用いる迅速血清診断法の開発

図7に示す形のイムノクロマト迅速診断キット (IC 迅速キット, 多包虫用) が研究試薬として作

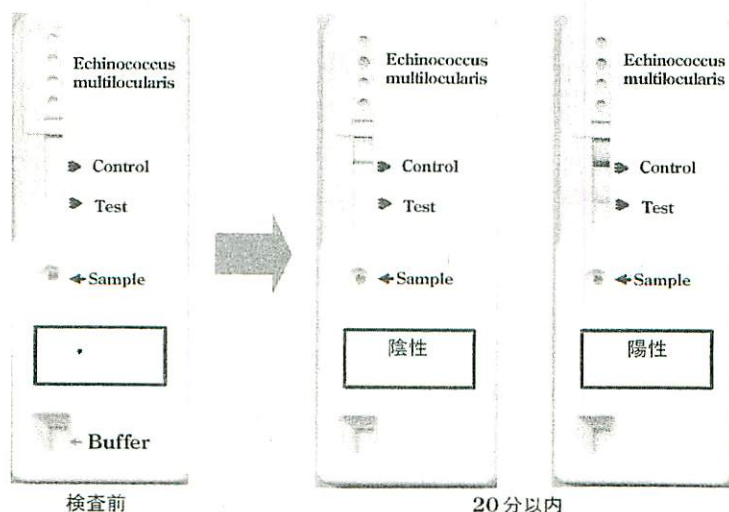


図7 エキノコックス症 (多包虫症) イムノクロマト迅速診断用キット (研究試薬) (旭川医大・アドテック)

表1 エキノコックス症(多包虫症)に関する国際標準検査

1)術前検査:	問診 腹部画像検査(PET, CT) 血清検査(RecEm18-IB, RecEm18-IC 迅速キット)
2)術後検査:	病理検査 病理標本を用いる遺伝子検査
3)予後判定:	血清検査(RecEm18-ELISA), 画像検査
4)再発検査:	血清検査(RecEm18-ELISA), 画像検査
5)住民検査:	血清検査(RecEm18-ELISA), 画像検査

成されている。抗体応答が高い症例では5分以内に診断用の抗原抗体反応バンドが肉眼で確認できるが、最終的には20分後に判定するキットである。遺伝子組み換えAgB8/1抗原を用いる単包虫症用のIC迅速キットの試作品もできている。これらの迅速キットとこれまでのイムプロット法との比較解析は海外の研究機関との共同研究として既に展開され、イムプロット法と同じ感度であることが判明している。今後は体外診断キットとして承認してもらう研究を展開する計画である。発明国である日本でこのキットの普及が待ち焦がれる。

d. 迅速診断キットの住民検診への導入

流行地住民10万人のなかに治療を要する100人の多包虫症患者がいると想定すると、この迅速キットで101人位が陽性になり、画像所見との照合からほぼ100人の確認が一度で特定できると予測される。住民検診においても確認血清検査法としての特異抗原(Em18, EmII/3-10)を用いるIBだけでよいという意見がある(Prof. Gottstein)。スクリーニングと確認検査を一度の信頼性の高い遺伝子組み換え抗原を用いるIB検査で終わらせるという見解である。ただし、Gottstein教授の研究グループが開発した抗原には精製度に難点があり、IBでしか確認できず、ELISA法に応用できない問題を抱えている。それに対し、旭川医大で作製された抗原RecEm18はIBならびにELISA両技法における成績がほぼ99%一致している。多包虫症に関する血清診断法の信頼性がほぼ100%近くまで高くなった今日、IBあるいは迅速ICキットの検査だけでも十分であろう。非特異反応が非常に高い粗抗原を用いるスクリーニング

用ELISA法は必要ない時代であろう(Ito et al. 2007)。旭川医大ではアドテック株式会社(〒879-0471大分県宇佐市四日市1693-6, Tel: 0978-33-5500, Fax: 0978-33-5501)と迅速ICキットならびに迅速ELISAキット(研究試薬)を開発している。

3. まとめ: 旭川医大における国際標準診断法の確立

1)画像診断, 2)血清診断, 3)病理診断の流れと
1)血清診断, 2)画像診断, 3)病理診断の流れがあるが、いずれにせよ、画像診断と血清診断を併用するエキノコックス症術前診断が必要である。多包虫症では早期診断, 早期外科治療が推奨されており、切除病変を用いる病理診断がほぼ100%の症例で行われる。これまで他の血清診断法により、多包虫症と誤診され、不要の外科処置を受けた症例が少なくない(青木, 他2006)。逆に多包虫症患者が他の血清診断法により見落とされ、悪性腫瘍の疑いで手術を受けた例も少なくない(伊藤, 他2003)。そのような症例を含め、病理所見が典型的でない場合も想定されることから、病理標本を用いる4)遺伝子確認検査(遺伝子診断)を追加すべきである(表1)。同時に、病変の一部を実験動物に移植し、多包虫の発育の有無を確認する方法も必要に応じて用いられている(Nakaya et al. 2006)。これらすべての検査が同一医療、医育機関で実施できるのは現在世界でも旭川医大だけであろう。

講演の機会を与えて頂きました臨床検査医学会の先生方、同僚の伊藤喜久教授に御礼申し上げます。上記の研究は文科省科研費・国際学術(共同研究)、

科学技術振興調整費, 特定研究(免疫マトリックス), 科研費・基盤研究A(海外), アジア・アフリカ学術基盤形成事業, 米国立衛生研究所(US-NIH)研究費ならびに旭川医科大学学長裁量経費によって推進された。旭川医大はWHO-IWGEの「血清, 遺伝子診断法のレファレンスセンター」として世界中から血清, 遺伝子診断用サンプルの提供を受けてきた。協力してくれたすべての研究機関に感謝したい。

文 献

- 1) Bart JM, Piarroux M, Sako Y, et al. Comparison of several commercial serologic kits and Em18 serology for detection of human alveolar echinococcosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59: 93-5.
- 2) Brehm K, Jensen K, Frosch P, et al. Characterization of the genomic locus expressing the ERM-like protein of *Echinococcus multilocularis*. *Mol Biochem Parasitol* 1999; 100: 147-52.
- 3) Craig PS, Giraudoux P, Shi D, et al. An epidemiological and ecological study of human alveolar echinococcosis transmission in south Gansu, China. *Acta Tropica* 2000; 77: 167-77.
- 4) Craig PS, Budke CM, Schantz PM, et al. Human echinococcosis: a neglected disease? *Trop Med Health* 2008; in press.
- 5) Frosch PM, Frosch M, Pfister T, et al. Cloning and characterization of an immunodominant major surface antigen of *Echinococcus multilocularis*. *Mol Biochem Parasitol* 1991; 48: 121-30.
- 6) Fujimoto Y, Ito A, Ishikawa Y, et al. Usefulness of recombinant Em19-ELISA to evaluate efficacy of treatment in patients with alveolar echinococcosis. *J Gastroenterol* 2005; 40: 426-31.
- 7) Hemmings L, McManus DP. The diagnostic value and molecular characterization of an *Echinococcus multilocularis* antigen gene clone. *Mol Biochem Parasitol* 1991; 44: 53-61.
- 8) Ito A. Serologic and molecular diagnosis of zoonotic larval cestodes infections. *Parasitol Int* 2002; 51: 221-35.
- 9) Ito A, Craig PS. Immunodiagnostic and molecular approaches for the detection of taeniid cestodes infections. *Trends Parasitol* 2003; 19: 377-81.
- 10) Ito A, Craig PS, Schantz PM. Taeniasis/cysticercosis and echinococcosis with focus on Asia and the Pacific. *Parasitol Int* 2006; 55: S1-308.
- 11) Ito A, Nakao M, Sako Y. Echinococcosis: serological detection of patients and molecular identification of parasites. *Future Microbiol* 2007; 2: 439-49.
- 12) Ito A, Nakao M, Kutsumi H, et al. Serodiagnosis of alveolar hydatid disease by western blotting. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993a; 87: 170-2.
- 13) Ito A, Wang XG, Liu YH. Differential serodiagnosis of alveolar and cystic hydatid disease in the People's Republic of China. *Am J Trop Med Hyg* 1993b; 49: 208-13.
- 14) Ito A, Schantz PM, Wilson JF. Em18: a new serodiagnostic marker for differentiation of active and inactive cases of alveolar hydatid disease. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52: 41-4.
- 15) Ito A, Ma L, Schantz PM, et al. Differential serodiagnosis for cystic and alveolar echinococcosis using fractions of *Echinococcus granulosus* cyst fluid (antigen B) and *E. multilocularis* protoscolex (Em18). *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 188-92.
- 16) Ito A, Sako Y, Yamasaki H, et al. Development of Em18-immunoblot and Em18-ELISA for specific diagnosis of alveolar echinococcosis. *Acta Tropica* 2003; 85: 173-82.
- 17) Ito A, Romig T, Takahashi K. Perspective on control options for *Echinococcus multilocularis* with particular reference to Japan. *Parasitology* 2003; 127: S159-72.
- 18) Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, et al. Molecular cloning, expression, and serological evaluation of an 8-kilodalton subunit of antigen B from *Echinococcus multilocularis*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1082-8.
- 19) Mamuti W, Sako Y, Xiao N, et al. *Echinococcus multilocularis*: developmental stage-specific expression of antigen B 8-kDa-subunits. *Exp Parasitol* 2006; 113: 75-82.
- 20) Mamuti W, Sako Y, Bart JM, et al. Molecular characterization of a novel gene encoding an 8-kDa-subunit of antigen B from *Echinococcus granulosus* genotypes 1 and 6. *Parasitol Int* 2007; 56: 313-6.
- 21) Muller N, Frei E, Nunez S, et al. Improved serodiagnosis of alveolar echinococcosis of humans using an in vitro-produced *Echinococcus multilocularis* antigens. *Parasitology* 2007; 134: 879-88.
- 22) Nakao M, McManus DP, Schantz PM, et al. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* in-

- ferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* 2007; 134: 713-22.
- 23) Nakaya K, Mamuti W, Xiao N, et al. Usefulness of severe combined immunodeficiency (scid) and inbred mice for studies of cysticercosis and echinococcosis. *Parasitol Int* 2006; 55: S91-7.
- 24) Sako Y, Nakao M, Nakaya K, et al. Alveolar echinococcosis: characterization of diagnostic antigen Em18 and serological evaluation of recombinant Em18. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2760-5.
- 25) Satoh M, Nakaya K, Nakao M, et al. *Echinococcus multilocularis* confirmed on Kunashiri island, 15 kilometers from the eastern part of Hokkaido, Japan. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72: 284-8.
- 26) Vogel M, Gottstein B, Muller N, et al. Production of a recombinant antigen of *Echinococcus multilocularis* with high immunodiagnostic sensitivity and specificity. *Mol Biochem Parasitol* 1988; 31: 117-25.
- 27) WHO/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. OIE, Paris, 2001.
- 28) 青木貴徳, 紀野修一, 山崎弘貴, 他. 単純性肝嚢胞の1例: Em18-WBによる鑑別診断の有用性. *日本消化器病学会雑誌* 2006; 103: 955-60.
- 29) 伊藤 亮. 旭川医科大学におけるエキノコックス症研究の現状と日本におけるエキノコックス症の問題点. *北海道医学雑誌* 2001; 76: 3-8.
- 30) 伊藤 亮. ペットからうつる病気. エキノコックス症. *からだの科学* 2005; 242: 57-60.
- 31) 伊藤 亮, 石川裕司. 単包虫症, 多包虫症の免疫診断法. *Medical Technology* 2002; 30: 97-103.
- 32) 伊藤 亮, 石川裕司. いま日常診療で注目すべき原虫症・寄生虫症. エキノコックス症. *JIM* 2003; 13: 234-6.
- 33) 伊藤 亮, 石川裕司, 北田正博, 他. 肺エキノコックス症. *呼吸* 2003; 22: 56-60.
- 34) 土井陸雄, 中尾 稔, 二瓶直子, 他. 北海道礼文島における多包虫症の消長と感染期間の推定. *日本公衆衛生学雑誌* 2000; 47: 145-52.
- 35) 皆川知紀. 礼文島エキノコックス症自然史再考. *北海道医学雑誌* 1999; 74: 113-34.