

# AMCoR

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

Modern Media (2009.10) 55巻10号:260～268.

エキノコックス症に関する免疫診断法の開発と流行地での応用

伊藤亮

## 【第 45 回 小島三郎記念文化賞】

エキノコックス症に関する免疫診断法の開発と  
流行地での応用The establishment of highly reliable immunodiagnostic tools for  
echinococcoses and application in endemic areasいとう あきら  
伊藤 亮  
Akira ITO

## はじめに

周りから薦められて何となく東北大学理学部に進学、学部、大学院で動物発生学講座の樋渡宏一教授の指導を受け<sup>1)</sup>、原生動物の一種、ゾウリムシの有性生殖に関する「接合物質」を証明するテーマに取り組んだ。ゾウリムシは一定の回数2分裂を繰り返した後、性的に成熟し、腹側の繊毛で特定の相手と腹側同士で接合する。この性的に成熟しているゾウリムシの繊毛に対する抗血清を作製し、成熟個体が凝集するか否かを解析し、「接合物質」の存在を証明する研究を展開した。後期課程進学が決まっていた1971年3月中旬に、昭和大学医学部、医動物学講座の岡本謙一教授（東北大学理学部卒）から樋渡先生に「免疫学に興味ある大学院生を助手として推薦していただけますか？」という連絡が届き、樋渡先生から、「伊藤君が一番近いけど、どうする？」と声をかけられ、これが契機となり医学部助手として勤務することになった。理学部では寄生現象については殆ど学ぶ機会がなかったが、医学部に助手として勤務し寄生生物の多様な世界を垣間見る機会が与えられた。

条虫（サナダムシ）の虫卵（中間宿主動物への感染性を有している第1期幼虫、六鉤幼虫が包蔵されている）が哺乳動物に感染する場合には、1度感染した哺乳動物は胸腺依存の獲得免疫によって再感染しないという非常に明確な現象が判明し始めた時期であった<sup>2,3)</sup>。国内で小形条虫感染マウスにおける再感染防御免疫機構の研究を展開していたのが岡本先生のグループで、私もこの研究プロジェクトに参

加した。理論的には1隻の六鉤幼虫が感染するだけで再感染が完全に阻止され、殆どの六鉤幼虫は小腸組織内に侵入できないこと<sup>4)</sup>、免疫を獲得しているマウスの血清中に六鉤幼虫に対する特異抗体が産生されていることを人工孵化させた幼虫の凝集反応を用いて証明し、1975年に英国の専門誌 *Parasitology* に公表した<sup>5)</sup>。この研究が東北大学での理学博士論文の1部になった。樋渡先生は、「伊藤君はゾウリムシの凝集反応を寄生虫に応用した」と大笑いされた。先生は東北大学を定年退官された後、学士院会員として日本における細胞生物学の研究をリードし、多くの研究者を育て上げられたが、はみだし者の私の研究にも温かく励ましてくださった。この受賞講演論文では、エキノコックス症に関する免疫診断法の研究に至った偶然の積み重ねの研究の軌跡を振り返ってみたい。（注1）

I. 寄生虫感染免疫学の研究と  
海外の専門家との出会い

## 1. 小形条虫－マウス感染系

条虫の生活環 (life cycle) の完成には中間宿主 (intermediate host) と終宿主 (definitive host) の少なくとも2種類以上の動物が必要である。中間宿主の消化管内で孵化した第1期幼虫 (六鉤幼虫、oncosphere) は小腸組織内に侵入し、血流、リンパ流に乗って特定の組織内で第2期幼虫 (metacestode) に発育分化し、終宿主に食べられる機会を待つ。第2期幼虫はその形態により、擬充尾虫 (plerocercoid)、

擬囊尾虫 (cysticeroid)、囊尾虫 (cysticercus)、共尾虫 (coenurus)、包虫 (echinococcus) と呼ばれる。人体が中間宿主になり、病害が重篤なものは主に囊尾虫 (cysticercus) ならびに包虫 (echinococcus) 寄生による囊虫症 (cysticercosis) ならびに包虫症 (=エキノコックス症、echinococcosis) である。終宿主に摂取された第2期幼虫は宿主の腸腔で成虫に発育し、虫卵を生産し、次世代に引き継ぐ。

小形条虫 (*Hymenolepis nana*) は通常、昆虫を中間宿主とし、マウスが終宿主であるが、例外的にマウス1個体の小腸で全生活環を完成できる。小腸で孵化した第1期幼虫 (六鉤幼虫) は小腸絨毛組織内に侵入し、そこで第2期幼虫 (擬囊尾虫) に分化する。この幼虫は絨毛組織から腸腔に脱出し成虫に発育する。虫卵ならびに昆虫体内で発育した幼虫、すなわち第1期ならびに第2期幼虫がマウスに感染できる。小形条虫と同様に第1期ならびに第2期幼虫が同一動物に感染可能な典型的な条虫は人体寄生虫である有鉤条虫 (*Taenia solium*) である。第1期幼虫がヒトに感染した場合には第2期幼虫が全身、特に大脳で発育分化し、脳囊虫症 (neurocysticercosis) を引き起こす。第2期幼虫が感染した場合には小腸でテニア症 (taeniasis) を引き起こす成虫に発育し、虫卵 (第1期幼虫) を体外に排出することになる。有鉤条虫は元々ヒト (*Homo sapiens* あるいは *Homo erectus*) の寄生虫であったと考えられている。すなわち人食 (cannibalism) 生活を通して生活環が完成していた、それがブタを中間宿主として利用するようになったと推測されている<sup>6)</sup>。

岡本先生の研究対象は虫卵による初感染後数日以内に獲得される虫卵に対する再感染防御免疫機構の解析であった。私が報告した抗体応答は、この数日以内の免疫機構とは合致しないものであったが、初感染六鉤幼虫は非常に強い免疫原性を有し、宿主マウスが虫卵による再感染に対して完璧な防御免疫を獲得するにもかかわらず、擬囊尾虫、成虫に発育分化し、次の世代である虫卵を産生、生存できる、いわゆる“免疫宿主体内での初感染寄生虫の生存機構”解析への取り組みの契機になった<sup>7)</sup>。その後、免疫原である第1期幼虫が発育分化過程で免疫原性を変化させていること、第1期幼虫、第2期幼虫、成虫それぞれが異なる免疫原性を有していることを免疫生物学的に証明した<sup>8-11)</sup>。

1979年に岐阜大学医学部に転勤し、大友弘士教授から免疫診断学の指導と海外への出張の機会をいただいた。1981年に教授と一緒にフィリピンに出張する機会が与えられ、新しい先生方との出会いがあった。その中でも帯広畜産大学教授の鈴木直義先生<sup>12)</sup>、フィリピン大学で住血吸虫症に関する免疫学的研究を展開していたオーストラリア Walter and Eliza Hall 医学研究所の G Mitchell 博士との出会いは、その後の私の研究生活に大きな影響を与えてくださった<sup>13, 14)</sup>。

## 2. 小形条虫から猫条虫への転換

1982年にチェコスロバキアで開催された第1回テニア症・囊虫症会議<sup>15)</sup>、WHO ガイドライン作成会議に参加し<sup>16)</sup>、海外の多くの先生方から多くの助言をいただいた。私は小形条虫・マウスの実験系からマウスの系統間で自家感染 (autoinfection) の成否が大きく異なることについて発表した<sup>15)</sup>。扁形動物 (条虫、吸虫) の生理学、発生学の「父」と呼ばれていた London 大学名誉教授 J Smyth 先生からの質問に対し、単語ひとつ “simultaneously” が解らずに立ち往生した。会場からホテルに戻る道すがらお訊ねして、やっと答えることができた。チェスケブデヨヴィツェでの会議に引き続きプラハで WHO テニア症、囊虫症ガイドライン作成会議が開かれた。ガイドライン作成会議のまとめ役は Cambridge 大学の E.J.L Soulsby 教授、会議の世話をしたのが Z Matyas 博士、Z Pawlowski 博士だった。Matyas 博士から contributor として参加するか advisor として参加するかと尋ねられた。自信がなく advisor として参加する旨を伝えたが、contributor として参加したい旨を伝えればその場で往復航空券代を小切手でもらえた。私は Soulsby 教授が班長で、メキシコの A Flisser, J Laclette 教授達の分科会に参加したが、実際の進行は Soulsby 教授が私達3人に質問して、すべてまとめてくれるという作業だった。これだったら、遠慮せずに contributor として参加すると伝えるべきだったと後悔した覚えがある<sup>16)</sup>。この国際会議は私にとって初めての海外への独り旅だったが、大学の恩師の樋渡先生が、「伊藤君、大きな学会はお祭りだが、専門家だけの小さな学会は収穫が大きいので、自腹で出かける位だと得るものが多いよ!」と助言してくださっていたし、現在85歳を越

してもなおこれらの難治性寄生虫疾患対策に情熱を燃やし続けているポーランド出身の元 WHO 部長の Pawlowski 博士が大きな関心を抱いてくださったこと<sup>16, 17)</sup>、囊虫症に関する学会がどんなものか？自分の目で確かめたいという思いで参加を決意した。

1985年12月に第2回テニア症・囊虫症ならびにエキノコックス症会議が開かれた<sup>18)</sup>。この会議で Cambridge 大学の M Gemmell 教授から“小形条虫感染マウスは囊虫症、エキノコックス症の動物モデルにはならない！”と厳しい指摘を受けた。Melbourne 大学の M Rickard 博士から“マウス寄生条虫の発育分化に伴い抗原性の変化に関する報告であるが、自分達が用いている *Taenia* 条虫でも同じようなことが見つかっている”という援護射撃があり、Melbourne 大学への招聘打診があった。お二人のコメントはその後の私の研究に大きな影響を与えた。この会議から日本に戻ってすぐに、Soulsby 教授から *Immune Responses in Parasitic Infections* 第2巻に条虫症の章を書くよう要請された<sup>19)</sup>。一人で書くのが不安であれば誰でも好きな共著者を指名しなさいということで、現役の先生だと私の構想がつぶされそうだと判断し、Smyth 先生にお願いした。Smyth 先生は若造の勝手な仮説その他を無視せずに、勇ましいね！と、私の構想をすべて笑いながら受け入れて総説をまとめてくださった<sup>19)</sup>。

### 3. 猫条虫－マウス、ラット感染系

日本で小形条虫・マウスを用いて再感染防御免疫機構の解析に取り組んでいた時期に、テニア科条虫の実験動物モデルとして猫条虫 (*Taenia taeniiformis*) その他を用いる研究を展開していたのがメルボルン学派であった。テニア科条虫は生活環を完成させるためには、2種類の哺乳動物を宿主とし、中間宿主体内で発育する幼虫が非常に強い病原性を有している非常にユニークな一群で、囊虫症、エキノコックス症がその代表的な疾患である。畜産国であるオーストラリアでこの種の研究が展開されたことはむしろ当然の帰結であった。

免疫細胞の一つ、T細胞を発見した Mitchell 博士は Rickard 博士のグループと *Taenia* 属条虫の六鉤幼虫と囊尾虫の免疫原性が大きく異なることを証明し<sup>20-22)</sup>、六鉤幼虫から再感染防御を引き起こす防御抗原分子を同定し、その遺伝子クローニング、遺

伝子組み換えワクチン産生の一連の研究を1980年代後半に展開していた<sup>23, 24)</sup>。

1986年のMelbourne大学からの招聘時には、小形条虫ならびに近縁の *Hymenolepis microstoma* を用い、六鉤幼虫、擬囊尾虫、成虫の抗原性が異なることを免疫化学的手法によって証明した<sup>25, 26)</sup>。

### 4. 人体寄生テニア症、囊虫症、エキノコックス症への転換

1986年の留学時にMelbourne大学の海外学位審査員を務め、「エキノコックス感染動物における免疫応答研究」の審査をし、500ページを越す学位論文と格闘した。Rickard博士の研究室ではVictoria州におけるエキノコックス症(単包虫症)血清検査センターとしてELISA法を実施しており、エキノコックス症に関する研究が身近なものになった。また、留学時にブリスベンで国際寄生虫学会が開催されたが、そのサテライト会議として囊虫症・エキノコックス症ワークショップがメルボルン大学で開催され、米国CDCのP Schantz博士を含む欧米の研究者が一堂に会した。

日本学術振興会特定国派遣事業により1988年に再度メルボルン大学に留学した。この時には猫条虫感染を防御する遺伝子組み換え抗原作製、ワクチン開発の基礎研究を展開した<sup>27, 28)</sup>。これらの経験を通して、難治性寄生虫疾患に直接取り組む研究に大きく舵を切ることになった。

その後1991年に米国Uniformed Services University of the Health SciencesのJ Cross教授が世話したCitizen Ambassador Program Parasitology Delegationに参加した<sup>29)</sup>。これが縁で、Cross先生からアジア各国の研究者を紹介していただき、ほぼ全世界の研究仲間との今日に至る長い交流の基盤が形成された。1998年に旭川医科大学で寄生虫学講座を主宰する機会を与えていただき、着任してから今日までの研究活動については別紙に書いているので、そちらをご笑覧ください<sup>30)</sup>。

## II. 囊虫症、テニア症

### 1. 血清診断法の研究

人体寄生囊虫症(cysticercosis)は有鉤条虫に感染

している保虫者 (worm carrier) であるヒトから排泄された虫卵を誤飲した不特定多数の人で引き起こされる、突然死が最も多い人畜共通寄生虫病 (cestode zoonosis) である。米国 CDC の V Tsang 博士が開発した lectin による affinity 精製抗原を用いるイムノプロット法が 1989 年以来世界の囊虫症診断の gold standard とされていた<sup>31)</sup>。Tsang 博士の指導者でもあった Schantz 博士から提供された脳囊虫症 (neurocysticercosis) 患者血清を用い、分離用等電点電気泳動装置を用いて精製した抗原を用いてイムノプロット法、ELISA 法を試みた結果、いずれの方法でも同じ感度、特異性を有する抗原精製に成功した。Schantz 博士はイムノプロット法と同じ信頼性を有す ELISA 法を確立できたことは画期的な成果で、速やかに論文を発表すべきと助言してくれた<sup>32)</sup>。教室の迫康仁博士がこの診断抗原を遺伝子組み換え抗原として産生することに成功した<sup>33)</sup>。

## 2. 遺伝子多型解析

囊虫症には皮下 (subcutaneous cysticercosis) ならびに脳 (neurocysticercosis) に病巣ができるアジア型と、脳だけに病巣ができるアメリカ・アフリカ型に大別されていた。教室の中尾稔博士が全世界の有鉤条虫を材料に、ミトコンドリア遺伝子を解析し、アジア型とアメリカ・アフリカ型に分かれることを報告した<sup>34, 35)</sup>。ほぼ同じ時期に Tsang 博士のグループは部分配列の解析を基に、差がないという異なる結果を発表した<sup>36)</sup>。病態の違いを決定している遺伝子はまだ特定されていないが、アジア型とアメリカ・アフリカ型の寄生虫が産生する診断用抗原の分子量にも差があり<sup>37, 38)</sup>、それは糖鎖修飾の違いであることを旭川医科大学グループが証明した<sup>38)</sup>。

囊虫症患者は、術前に確定診断がつかない場合には悪性腫瘍の疑いで開頭手術を受けることが少なくない。病理標本が入手できる場合には遺伝子解析により感染地を特定できる可能性があることも旭川医科大学グループの研究から判明してきている<sup>39, 40)</sup>。

## 3. 囊虫症とエキノコックス症の共通点

いずれもテニア科条虫 (テニア属、エキノコックス属) の幼虫によって引き起こされる難治性寄生虫疾患であり、血清学的にも非常に多くの交差反応が見られる。血清学的あるいは遺伝子学的鑑別診断法

の確立には両疾患の比較解析が不可欠である<sup>32, 33)</sup>。Schantz 博士、Melbourne 大学の M Lightowlers 博士から提供された確定診断がついた多包虫症、単包虫症、囊虫症、その他の血清を用いてエキノコックス症に関する血清診断法の研究を 1990 年夏から展開した<sup>41, 42)</sup>。

## III. エキノコックス症

### 1. 多包虫症に関する血清診断法の研究

1991 年秋に Cross 先生と一緒に訪問した中国、海口市で開催された国際寄生虫病学会で「Em18 を用いるエキノコックス症に関する血清診断法」について講演し<sup>29)</sup>、重慶医科大学感染症内科学の劉約幹教授との共同研究が始まった<sup>30, 41)</sup>。1993 年に新規の診断抗原として多包虫から抽出し、イムノプロット法により目で見えるバンドとして Em18, Em16 を報告した<sup>41, 42)</sup>。これら 2 つの成分に対する抗体応答を主な診断基準とするイムノプロットキットが現在フランスで市販されている<sup>43)</sup>。Em18 と反応せず Em16 だけに反応する症例はすべて単包虫症であり<sup>44, 45)</sup>、Em16 の分子特性が判明すれば、単包虫症の病態解析に役立つ新しい知見が得られるものと期待している。Em18, Em16 を正確に鑑別できる技術 (たとえばモノクロー抗体) 無しに特異性を論じた論文が幾つか発表されたが、正確に論じるにはそれに必要な技術は不可欠であった<sup>46, 47)</sup>。

迫康仁博士の研究から、遺伝子組み換え抗原作製により Em18 の遺伝子配列、アミノ酸配列、局在が明らかになった<sup>48, 49)</sup>。ドイツ、スイス、オーストラリア、日本の研究グループがそれぞれ別個に多包虫症に関する血清診断に有用な抗原を探索し、分子量を異にする抗原を見つけ出し、EM10, EmII/3, EM4, Em18 と命名した。その後、これら 4 種類の抗原はいわゆる ezrin-like protein (ELP、エズリン類似蛋白質) であり、Em18 は cysteine protease による分解産物であることが判明した<sup>48, 49)</sup>。Ezrin はヒトの細胞内マトリックスを形成する重要な蛋白質であり、寄生虫がヒトの ezrin と高い相同性を示す類似蛋白質を産生していることは、本疾患が慢性疾患である点から、大変興味深い。4 種類の分子量を異にする同一 ELP の中で Em18 は ezrin との相同性が最

も、極端に少ない部分であり<sup>49)</sup>、病態の進行に応じて抗体応答が増幅される唯一の分子であることが最近のドイツとの共同研究<sup>50)</sup>ならびに旭川医科大学病院症例から判明している<sup>51)</sup>。同様の成績はフランス (Bresson-Hadni S et al. in prep)、日本国内症例 (Akabane H et al. unpublished)でも確認されている。すなわち、活性病巣を有し、病態の悪化が予測される多包虫症症例をほぼ100%近く、1度の検査で確認できる検査法であり、他の検査法よりも格段に感度も高く、治療判定法としても非常に有用であることがブラインドテストから判明している<sup>48, 50, 51)</sup>。

ELISA法、イムノプロット法、イムノクロマトグラフィは、すべて基本的には抗原抗体反応の定量的な測定法である。イムノクロマトグラフィを用い<sup>52)</sup>、迅速診断キット開発が文部科学省、北海道橋渡し研究の1テーマとして2007年に採択され、2009年度計画から北海道内3大学病院での外部評価が始まろうとしている。

2007年に、スイスのグループが診断に役立つ新規分子として、培養した幼虫から20-22 kDa分子を見つけ、イムノプロット法を用いると活性型、不活性型を問わずエキノコックス症(多包虫症は100%、単包虫症では50%)の検出に役立つが、ELISA法では同じ活性型患者血清で55%、不活性型患者では12.5%しか検出できず、ELISAは利用できない、これまで多包虫症診断に役立つと報告してきたEm2, II/3-10は少なからず、他の寄生虫疾患とも交差することを報告した<sup>53)</sup>。ブラインドテストによる外部評価が必要であることを痛感させる論文であった。いずれにせよ、単包虫症と多包虫症の鑑別ならびに治療を要する活性病巣を有する症例と特別の治療を必要としない不活性病巣、自然治癒症例の鑑別が不可能であり、Em18を用いる検査は確定診断ならびに治療指針を決める上で非常に重要で、必須である。

活性病巣を有している多包虫症患者をほぼ100%近く確実に検出できる診断抗原(Em18)が、全世界のエキノコックス症研究機関によるブラインドテストに基づく外部評価を得<sup>50, 54, 55)</sup>、また特別な経験、施設も必要としない迅速診断キットが完成している現在<sup>52)</sup>、一日も早くこの信頼性の高い新しい検査法を国内での住民検診ならびに確認検査にも導入すべきであろう<sup>56~58)</sup>。画像診断で何らかの病巣が肝臓か

ら検出できる時に、Em18に対する抗体応答を確認し、術前診断を下して、治療に当たるべきであり、逆にEm18に対する抗体応答を流行地の住民はじめ、感染の不安を抱いている人々に適用し、抗体が確認された人達に画像診断を実施すべきであろう。抜本的な構造改革が可能な時代になったと判断している。

## 2. 単包虫症に関する血清診断法の研究

単包虫症に関する血清診断法の研究でも最も信頼性が高い抗原の遺伝子組み換え抗原作製、評価獲得に成功している<sup>59, 60)</sup>。Antigen Bが最も信頼性が高い診断抗原として知られていたが、この抗原には少なくとも5種類の8 kDa抗原(Antigen B8/1~8/5)が存在することが判明した<sup>59)</sup>。その内、Antigen B8/1が最も診断に有用であり、それは包虫ステージに特異的に発現している蛋白質であることが判明した<sup>60)</sup>。例えば*Hymenolepis*条虫の発育段階で異なる蛋白質が発現していることを30年後に*Echinococcus*条虫を用いて遺伝子レベルで確認できたことになる。

WHOは単包虫症の病型をCL, CE1~CE5まで分類しているが、活性病巣として最も重要なCE2, CE3の90%、97%以上がAntigen B8/1を用いる血清検査によって確認できることが判明してきている(Li T et al. in prep.; Ito A et al. unpublished)。Antigen B8/1を用いる迅速イムノクロマトキットの開発も進んでおり、ペルーの単包虫症患者の90%が20分以内に確認されている(Garcia H et al. unpublished)。

## 3. 流行地での住民検診、確定診断への利用

2000年7月に中国四川省成都市で「中国内陸地域における難治性寄生虫病(エキノコックス症、囊虫症)対策に向けた国際協力」会議を提案し、主催した<sup>61)</sup>。この会議にWPROハノイ事務所に着任直前であったC Urbani博士(後に呼吸器感染症SARS(severe acute respiratory syndrome)の第一発見者として2003年3月29日に自分の命を落とした)であった。WHOを代表してイタリアの自宅からはせ参じた。その後ベトナム、中国における寄生虫疾患対策について協力を求められた。日本、東南アジア、アフリカで互いに連絡を取らなくても再会し、「亮、

われわれは仏教の縁によって結びつけられている」と語った彼の言葉が胸に残っている。2000年9月に欧米を中心とする難治性寄生虫病（エキノコックス症、囊虫症）ワークショップがポーランドで開催された<sup>62)</sup>。これらの会議が有機的に働き、2000年10月からの米国立衛生研究所 RO-1 研究費「感染症の伝播生態学的研究：中国におけるエキノコックス症伝搬生態学、疫学研究」（代表、Salford 大学 P Craig 教授）を8年間いただき、血清診断、遺伝子診断の責任者として参加した。6～8カ国の専門家が参加し、協力した国際共同研究であり、この共同研究に参加できたことは大きな心の支えとなった。

寧夏回族自治区、甘肅省、四川省、青海省、新疆ウイグル自治区における流行地住民検診、確定診断に Em18 血清診断法がブラインドテストで用いられた。すべての地域で多包虫症、単包虫症が同所的に流行していたが、Em18 血清診断法は殆どの多包虫症を確実に拾い上げていた。また、Antigen B8/1 血清診断法も 85～97%の単包虫症を拾い上げていた (Li TY et al. in prep.)<sup>63～66)</sup>。

#### 4. エキノコックス条虫の遺伝子多型、Em18 診断抗原遺伝子の多様性

テニア科条虫、特に人体寄生テニア条虫ならびにエキノコックス条虫に関する遺伝子解析でも旭川医科大学グループは世界をリードしてきている。エキノコックス症を引き起こすエキノコックス条虫として4種類 (*Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*, *E. oligarthrus*) が知られていたが、これまで *E. granulosus* の遺伝子型として知られていた G1-G10 は4種類 (*E. granulosus sensu strict* (G1-G3), *E. equinus* (G4), *E. ortoleppi* (G5), *E. canadensis* (G6-G10)) として再分類された<sup>67)</sup>。さらにアフリカライオンから知られていた *E. granulosus felidis* も独立種 *E. felidis* として再評価された<sup>68)</sup>。これらのエキノコックス条虫に関する遺伝子解析は *E. multilocularis* にも適用された。中国チベット高原から発見された異常に小さな *E. multilocularis* は新種 *E. shiquicus* と命名された<sup>69)</sup>。全世界から入手した *E. multilocularis* 株についてミトコンドリアならびに核 DNA の解析を行い、世界に分布している *E. multilocularis* は4群の遺伝子型に分類されるが、Em18 をコードしている elp 遺伝子にはまったく変異がないことが

判明した<sup>70)</sup>。すなわち、全世界の多包虫症の流行地で、Em18 を用いる血清診断法が非常に有用であることが遺伝子解析からも支持されたと判断している。

#### まとめ

エキノコックス症に関する血清診断法それによつた遺伝子解析の研究について個人的な背景を含めて概説した。これらの研究についてはいくつか英文総説<sup>48, 58, 71, 72)</sup> ならびに和文総説でも詳細を記しているものでそちらを参照していただきたい<sup>73, 74)</sup>。今回概説した仕事はすべて旭川医科大学グループならびに国内外の共同研究者との研究成果である。偶然がいつの間にか一方向のベクトルとして作用し、継続という形で「遺伝子から流行の現場での疫学調査までを網羅する形の、世界46カ国の研究者との共同研究」へと発展した。今にして振り返れば、偶然からの継続が必然として結実しつつある。小さいころから「超鈍い」と呼ばれ、スポーツでも「遅攻自滅型」と呼ばれたが、大学進学をはじめ、周りの温かい支援により、急性疾患ではなく慢性疾患に関する研究をそれなりに展開できたことは不思議な巡り合わせである。

#### 謝 辞

文部科学省科学研究費・基盤研究 A (国際共同研究、海外調査研究) (1994～2012年度)、科学技術振興調整費 (2003～2005年度)、北海道橋渡し研究 (2007～2011年度)、日本学術振興会アジア・アフリカ学術基盤形成事業費 (2006～2011年度)、米国立衛生研究所研究費 RO-1 (2000年10月～2008年9月) による研究支援なしには上記の研究展開はあり得なかった。

旭川医科大学の第5代学長、久保良彦先生には寄生虫学講座を主宰する機会を与えていただき、「行政とのしがらみにとらわれることなくエキノコックス症に関する研究をどんどん進めてください」と常に励ましていただきました。第7代学長、吉田晃敏先生には今回の受賞にあたっての推薦をいただきました。九州大学名誉教授多田功先生、秋田大学名誉教授吉村堅太郎先生、山形大学前学長仙道富士朗先生、帯広畜産大学前学長鈴木直義先生<sup>12)</sup>、長崎大学熱帯医学研究所前所長青木克己先生、高知大学名誉教授橋口義久先生、をはじめ多くの先生方に励ましていただきました。

今回、病原微生物学、感染症、公衆衛生学に対する優れた研究に対して贈られる小島三郎記念文化賞をい

ただいたことを大きな心の励みとし、「遺伝子から流行の現場までを網羅する形の実践的研究」をさらに発展させたいと考えています。教員、共同研究者を代表し、選考委員の先生方、黒住医学研究振興財団の関係者の皆様方に心よりお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 高橋三保子：追悼 樋渡宏一先生. Jpn. J. Protozool. **42** : 3-4, 2009.
- 2) Okamoto K.: *Hymenolepis nana* : depression and restoration of acquired immunity in neonatally thymectomized mice. Exp. Parasitol. **27** : 28-32, 1970.
- 3) Okamoto K, Koizumi M.: *Hymenolepis nana* : effect of antithymocyte serum on acquired immunity in mice. Exp. Parasitol. **32** : 56-61, 1972.
- 4) Ito A, Yamamoto M.: The mode of active protection against *Hymenolepis nana* reinfection in mice inoculated with different doses of shell-free eggs. Jpn. J. Parasitol. **25** : 247-253, 1976.
- 5) Ito A.: *In vitro* oncospherical agglutination given by immune sera from mice infected, and rabbits injected with eggs of *Hymenolepis nana*. Parasitology **71** : 465-473, 1975.
- 6) Hoberg E, Alkire NL, Queiroz A, Jones A.: Out of Africa : origin of the *Taenia* tapeworms in humans. Proc. R. Soc. Lond. B **268** : 781-787, 2001.
- 7) Ciba Foundation Symposium 25 (new series) : Parasites in the Immunized Host : mechanisms of survival. Elsevier · Excerpta Medica · North-Holland, 1974.
- 8) Ito A.: The mode of passive protection against *Hymenolepis nana* induced by serum transfer. Int. J. Parasitol. **7** : 67-71, 1977.
- 9) Ito A.: *Hymenolepis nana* : Protective immunity against mouse-derived cysticercoids induced by initial inoculation with eggs. Exp. Parasitol. **46** : 12-19, 1978.
- 10) Ito A, Onitake K.: Complete resistance to challenges with *Hymenolepis nana* cysticercoids derived from mouse, rat and beetle in mice. Int. J. Parasitol. **16** : 623-628, 1986.
- 11) Ito A.: *Hymenolepis nana* : Immunogenicity of a lumen phase of the direct cycle and failure of autoinfection in BALB/c mice. Exp. Parasitol. **54** : 113-120, 1982.
- 12) 長澤秀行：追悼 鈴木直義先生. Jpn. J. Protozool. **42** : 1-2, 2009.
- 13) Miller JF, Mitchell GF.: The thymus and the precursors of antigen reactive cells. Nature **216** : 659-663, 1967.
- 14) Mitchell GF.: Responses to infection with metazoan and protozoan parasites in mice. Adv. Immunol. **28** : 451-511, 1979.
- 15) Ito A.: Success or failure of autoinfection with *Hymenolepis nana* and the presence of the stage specific immunogens. In : Human Taeniasis and Cattle Cysticercosis (ed. by J Prokopič). 162-168, Academia, Praha, 1983.
- 16) Gemmell M, Matyas Z, Pawlowski Z, Soulsby EJJL.: Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/cysticercosis. WHO VPH/83.49, 1983.
- 17) Pawlowski ZS.: Role of chemotherapy of taeniasis in prevention of neurocysticercosis. Parasitol. Int. **55** : S105-S109, 2006.
- 18) Ito A.: Stage specific immunogens of *Hymenolepis nana* in praziquantel treated mice. In : Taeniasis/Cysticercosis and Echinococcosis (eds. by J Prokopič, Štěrbá J), 25-34, Parazitologicky ustav CSAV, České Budějovice, 1986.
- 19) Ito A, Smyth JD.: Chapter 5. Adult cestodes – Immunology of the lumen-dwelling cestode infections. In : Immune Responses in Parasitic Infections : Immunology, Immunopathology, and Immunoprophylaxis (ed by Soulsby EJJL). vol. 2, 116-163, CRC Press, Boca Raton, 1987.
- 20) Bøgh HO, Rickard MD, Lightowlers MW.: Studies on stage-specific immunity against *Taenia taeniaeformis* metacestodes in mice. Parasite Immunol. **10** : 255-264, 1989.
- 21) Bowtell DDL, Saint RB, Rickard MD, Mitchell GF.: Expression of *Taenia taeniaeformis* antigens in *Escherichia coli*. Mol. Biochem. Parasitol. **13** : 173-185, 1984.
- 22) Lightowlers MW, Rickard MD, Mitchell GF.: Immunization against *Taenia taeniaeformis* in mice : identification of oncospherical antigens in polyacrylamide gels by Western blotting and enzyme immunoassay. Int. J. Parasitol. **16** : 297-306, 1986.
- 23) Smith DB, Johnson KS.: Single step purification of polypeptides expressed in *Escherichia coli* as fusions with glutathione S-transferase. Gene **67** : 31-40, 1988.
- 24) Johnson KS, Harrison GBL, Lightowlers MW, et al.: Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. Nature **338** : 585-587, 1989.
- 25) Ito A, Honey RD, Scanlon T, et al.: Analysis of antibody responses to *Hymenolepis nana* infection in mice by the enzyme-linked immunosorbent assay and immunoprecipitation. Parasite Immunol. **10** : 265-277, 1988.
- 26) Ito A, Itoh M, Andreassen J, et al.: Stage-specific antigens of *Hymenolepis microstoma* recognized in BALB/c mice. Parasite Immunol. **11** : 453-462, 1989.
- 27) Ito, A, Bøgh H., Lightowlers MW, et al.: Vaccination against *Taenia taeniaeformis* infection in rats using a recombinant protein and preliminary analysis of the induced antibody response. Mol. Biochem. Parasitol. **44** : 43-52, 1991.
- 28) Ito A, Takami T, Itoh M.: Vaccine effect of intact metacestodes of *Taenia crassiceps* against *T. taeniaeformis* infection in rats. Am. J. Trop. Med. Hyg. **44** : 696-701, 1991.
- 29) Cross JH.: Journal of the Citizen Ambassador Program Parasitology Delegation to the People's Republic of China October 25 – November 11, 1991.
- 30) 伊藤 亮：教室便り「旭川医科大学寄生虫学講座：地域に根ざし世界に発信する研究拠点を目指して」北海道医学雑誌 **84** : 479-481, 2009.
- 31) Tsang VC, Brand JA, Boyer AE.: An enzyme-linked immu-



- noelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). J. Infect. Dis. **159** : 50-59, 1989.
- 32) Ito A, Plancarte A, Ma L, et al.: Novel antigens for neurocysticercosis : simple method for preparation and evaluation for serodiagnosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. **59** : 291-294, 1998.
  - 33) Sako Y, Nakao M, Ikejima T, et al.: Molecular characterization and diagnostic value of *Taenia solium* low-molecular-weight antigen genes. J. Clin. Microbiol. **38** : 4439-4444, 2000.
  - 34) Okamoto M, Nakao M, Sako Y, Ito A.: Molecular variation of *Taenia solium* in the world. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health **32** (Suppl 2) : 90-93, 2001.
  - 35) Nakao M, Okamoto M, Sako Y, et al.: A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide. Parasitology **124** : 657-662, 2002.
  - 36) Hancock K, Broughel DE, Moura INS, et al.: Sequence variation in the cytochrome oxidase I, internal transcribed spacer 1, and Ts14 diagnostic antigen sequences of *Taenia solium* isolates from South and Central America, India and Asia. Int. J. Parasitol. **31** : 1601-1607, 2001.
  - 37) Ito A, Nakao M, Okamoto M, et al.: Chapter 5. Mitochondrial DNA of *Taenia solium* : from basic to applied science. In : *Taenia solium* cysticercosis (Singh G, Prabhakar S, eds.), 47-55. CAB International, 2002.
  - 38) Sato MO, Sako Y, Nakao M, et al.: Evaluation of purified *Taenia solium* glycoproteins and recombinant antigens in the serologic detection of human and swine cysticercosis. J. Infect. Dis. **194** : 1783-1790, 2006.
  - 39) Sudewi AAR, Wandura T, Artha A, et al.: *Taenia solium* cysticercosis in Bali, Indonesia : serology and mtDNA analysis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **102** : 96-98, 2008.
  - 40) Yanagida T, Yuzawa I, Joshi DD, et al.: Neurocysticercosis : assessing where the infection was acquired? J. Travel Med. in press.
  - 41) 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. **49** : 208-213, 1993.
  - 42) Ito A, Nakao M, Kutsumi H, et al.: Serodiagnosis of alveolar hydatid disease by Western blotting. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **87** : 170-172, 1993.
  - 43) Liance M, Jamin V, Bresson-Hadni S, et al.: Immunodiagnosis of *Echinococcus* infections : confirmatory testing and specific differentiation by a new commercial Western blot. J. Clin. Microbiol. **38** : 3718-3721, 2000.
  - 44) Ito A, Wen H, Craig PS, et al.: Antibody responses against Em18 and Em16 serodiagnostic markers in alveolar and cystic echinococcosis patients from northwest China. Jpn. J. Med. Sci. Biol. **50** : 19-26, 1997.
  - 45) Ito A.: Serodiagnosis of alveolar and cystic echinococcosis by Em18 and Em16 Western blot analysis. In Alveolar echinococcosis: strategy for eradication of alveolar echinococcosis of the liver (eds. by Uchino J, Sato N), 139-146, Fujishoin, Sapporo, 1997.
  - 46) Nirmalan N, Craig PS.: Immunoblot evaluation of the species-specificity of Em18 and Em16 antigens for serodiagnosis of human alveolar echinococcosis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **91** : 484-486, 1997.
  - 47) Jian L, Wen H, Ito A.: Immunodiagnostic differentiation of alveolar and cystic echinococcosis using ELISA test with 18-kDa antigen extracted from *Echinococcus* protoscoleces. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **95** : 285-288, 2001.
  - 48) Ito A, Nakao M, Sako Y.: Echinococcosis : serological detection of patients and molecular identification of parasites. Future Microbiol. **2** : 439-449, 2007.
  - 49) Sako Y, Nakao M, Nakaya K, et al.: Alveolar echinococcosis : characterization of diagnostic antigen Em18 and serological evaluation of recombinant Em18. J. Clin. Microbiol. **40** : 2760-2765, 2002.
  - 50) Tappe D, Frosch M, Sako Y, et al.: Close relationship between clinical regression and specific serology in the follow-up of patients with alveolar echinococcosis in different clinical stages. Am. J. Trop. Med. Hyg. **80** : 792-797, 2009.
  - 51) Ishikawa Y, Sako Y, Itoh S, et al.: Serological monitoring of progression of alveolar echinococcosis with multiorgan involvement by use of recombinant Em18. J. Clin. Microbiol. **47** : 3191-3196, 2009.
  - 52) Sako Y, Fukuda K, Kobayashi Y, Ito A.: Development of an immunochromatographic test to detect antibodies against recombinant Em18 for diagnosis of alveolar echinococcosis. J. Clin. Microbiol. **47** : 252-254, 2009.
  - 53) Müller N, Frei E, Nuñez S, Gottstein B.: Improved serodiagnosis of alveolar echinococcosis of humans using an in vitro-produced *Echinococcus multilocularis* antigen. Parasitology **134** : 879-888, 2007.
  - 54) Ito A, Xiao N, Liance M, et al.: Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with affinity-purified Em18 and an ELISA with recombinant Em18 for differential diagnosis of alveolar echinococcosis : results of a blind test. J. Clin. Microbiol. **40** : 4161-4165, 2002.
  - 55) 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. **59** : 93-95, 2007.
  - 56) 伊藤亮、山崎浩 : エキノコックス症の疫学と血清診断. Curr. Concepts Infect. Dis. **20** : 18-19, 2001.
  - 57) 伊藤亮、Xiao N, Mamuti W 他 : エキノコックス症血清診断法の進展. Clin. Parasitol. **13** : 122-124, 2002.
  - 58) Ito A, Sako Y, Yamasaki H, et al.: Review: Development of Em18-immunoblot and Em18-ELISA for specific diagnosis of alveolar echinococcosis. Acta Trop. **85** : 173-182, 2003.
  - 59) 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. **42** : 1082-1088, 2004.
  - 60) Mamuti W, Sako Y, Xiao N, et al.: *Echinococcus multilocularis* : developmental stage-specific expression of antigen

- B 8-kDa-subunits. *Exp. Parasitol.* **113** : 75-82, 2006.
- 61) Ito A, Urbani C, Qiu JM, et al.: Control of echinococcosis and cysticercosis : a public health challenge to international cooperation in China. *Acta Trop.* **86** : 3-17, 2003.
- 62) Craig PS, Pawlowski ZS.: Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis : an emergent and global problem. NATO Science Series 341, IOS Press, Amsterdam, 2002.
- 63) Yang YR, Sun T, Li Z, et al.: Community surveys and risk factor analysis of human alveolar and cystic echinococcosis in Ninxia Hui autonomous region, China. *Bull. WHO* **84** : 714-721, 2006.
- 64) Yang YR, Craig PS, Ito A, et al.: A correlative study of ultrasound with serology in an area in China co-endemic for human alveolar and cystic echinococcosis. *Trop. Med. Internat. Health* **12** : 637-646, 2007.
- 65) Yang YR, Liu XZ, Vuitton DA, et al.: Simultaneous alveolar and cystic echinococcosis of the liver. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **100** : 597-600, 2006.
- 66) Yang YR, Ellis M, Sun T, et al.: Unique family clustering of human echinococcosis cases in a Chinese community. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **74** : 487-494, 2006.
- 67) Nakao M, McManus DP, Schantz PM, et al.: A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* **134** : 713-722, 2007.
- 68) Hütner M, Nakao M, Wassermann T, et al.: Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda : Taeniidae) from the African lion. *Int. J. Parasitol.* **38** : 861-868, 2008.
- 69) Xiao N, Qiu JM, Nakao M, et al.: *Echinococcus shiquicus* n. sp., a teniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Int. J. Parasitol.* **35** : 693-701, 2005.
- 70) Nakao M, Xiao N, Okamoto M, et al.: Geographic patterns of genetic variation in the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*. *Parasitol. Int.* **58** : 384-389, 2009.
- 71) Ito A.: Serologic and molecular diagnosis of zoonotic larval cestode infections. *Parasitol. Int.* **51** : 221-235, 2002.
- 72) Ito A, Craig PS.: Immunodiagnostic and molecular approaches for the detection of taeniid cestode infections. *Trends Parasitol.* **19** : 377-381, 2003.
- 73) 伊藤亮、迫康仁、中尾稔、中谷和宏：エキノкокクス症に関する診断法の進展. *Lab. Clin. Pract.* **25** : 74-83, 2007.
- 74) 伊藤亮、中尾稔、迫康仁他：医学と医療の最前線：エキノкокクス症に関する診断法の進展. *内科学雑誌* **97** : 140-149, 2008.
- 注1. 本受賞論文を、研究哲学を教えてくださいました恩師樋渡宏一先生、常に自分が納得する仕事をしなさいと声援してくれた家族、澁谷亨、澁谷純子、伊藤武男、伊藤サトに捧げます。