



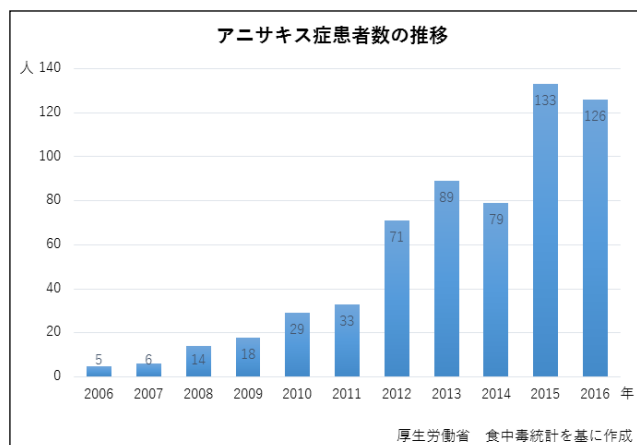
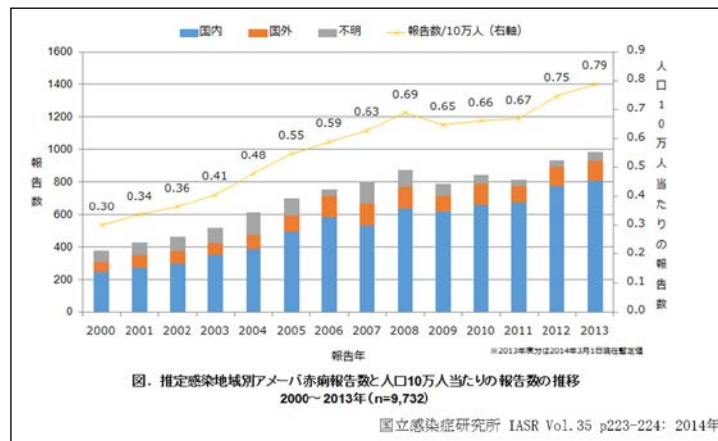
2017年12月13放送

「寄生虫感染症の迅速診断」

慶應義塾大学 感染症学専任講師 三木田 馨

はじめに

日本では寄生虫に感染することはほとんどないと思われがちですが、現在でも日本国内に寄生虫感染症は存在します。寄生虫は単細胞動物である原虫と、多細胞動物である蠕虫とに分けられますが、例えば、本邦での原虫感染症であるアメーバ赤痢の報告数は年々増加し、性感染症としての重要性を増しています。蠕虫感染症としては、最近では、サーモン、サバ、イカなどを生で喫食する事による、アニサキス症の報告数が増加しております。これは、2013年から食品衛生法施行規則の一部改正により届け出が義務化されたことも影響していると考えられますが、低温流通システムの発達により、魚の生食機会が増加したことも原因と考えられています。また、2016年には、茨城県で加熱不十分なクマ肉の喫食による旋毛虫症が、国内発生事例として35年ぶりに発生しました。農村部における野生鳥獣の被害対策として、これらの野生鳥獣が捕獲され、ジビエとして供される機会が増えてきている現状を考えます



と、今後も野生鳥獣の不十分な調理により、同様な寄生虫感染症が発生するのでは、と懸念されています。

世界的には、2016年のマラリアの年間罹患者数は約2億人、死亡者数は約43万人と報告されています。他にも住血吸虫症の罹患者数は2億人以上、土壌伝播蠕虫は15億人以上に感染しており、世界的には寄生虫感染症は未だに非常に大きな問題です。日本から旅行や仕事で海外渡航をする人の数は年々増加し、2015年には年間約1600万人にのぼっています。また訪日外国人数も増加し、2015年で約2000万人と報告されています。そのため、輸入感染症として国内で寄生虫感染症を診断・治療する機会が増加してくることが予想されます。

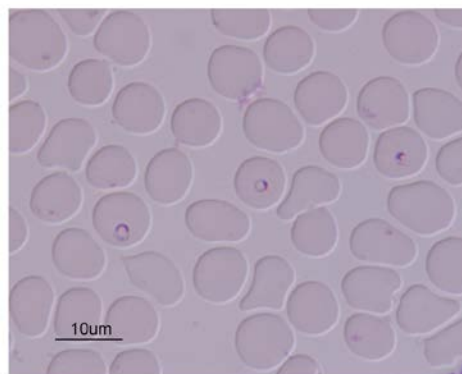
このように、本邦における寄生虫感染症を取り巻く環境は変化しており、今後、一般臨床医が寄生虫感染症を診断・治療する機会の増加も十分考えられます。しかしながら、日本国内では現在、寄生虫感染症を診断・治療する機会がほとんど無いのもまた事実です。結果として、診断に熟練した医師・検査技師の数は年々減少し、寄生虫感染症を診断・治療できる施設も限られてきているのが現状です。そのため、誰でも施行可能な、寄生虫感染症迅速診断法の開発が求められています。しかしながら、他の感染症と異なり、寄生虫感染症が流行している地域というのは低所得な国々であることが多く、診断法開発に際しては、迅速という点以外に検査方法が簡易で、誰にでも施行可能であること、また検査が安価に実施可能であることが求められます。

本日はそのような状況の中での、寄生虫感染症の迅速診断についてお話いたします。

寄生虫感染症診断

寄生虫感染症診断は、基本的には顕微鏡を用いての寄生虫の虫体そのもの、虫卵、もしくはシストを観察することによる形態診断でなされます。実際には、この方法が安価でかつ迅速性の高い検査法であるのですが、その診断精度は検査をする医師あるいは検査技師の熟練度によって異なります。例えば、赤血球内寄生原虫であるマラリアの検査には、血液塗抹標本の顕微鏡的検査が有用ですが、先ほど述べたように、日本国内の寄生虫感染症診断の熟練者の数は減少してきております。一方、非熟練者による検査では、感染率が低い場合のマラリア原虫の見逃しが問題となってきます。発展途上国においても、顕微鏡を用いた寄生虫形態診断は安価で非常に有用ですが、同様に検査者による検出感度の違いが問題になります。それ以前に、そもそも十分にトレーニングを受けた検査者自体の数が不足している、という問題もあります。

そのような問題がある中、海外では抗原抗体



熱帯熱マラリア患者の血液塗抹標本
獨協医科大学 川合寛博士のご厚意による

反応を用いたイムノクロマト法がマラリアの検査に広く使われています。本邦で、インフルエンザやノロウイルス感染症の際に、一般的に使用されている迅速診断検査キットと同様、検出バンドで診断をします。現在わが国で保険適用への申請が行われている Binax Now というキットは、熱帯熱マラリア原虫に特異的な HRP2 (histidine-rich protein 2) を検出するバンドと、4 種のマラリア原虫が持つアルドラーゼを検出するバンドを備えたキットです。このようなイムノクロマト法検査は、熟練した技術を必要とせず、また短時間での検査が可能であり、簡易性・迅速性に優れている特徴があります。また、検査に特別な機器が不要であることから、寄生虫感染症が大きな問題となっている熱帯・亜熱帯の地域での寄生虫感染症診断に非常に適しています。現在、マラリア以外にも、バンクロフト糸状虫症、リーシュマニア症などの寄生虫感染症へのイムノクロマト法の開発・応用が進んでいます。



マラリア抗原検出迅速キット (BinaxNOW®Malaria)
この結果からは熱帯熱マラリアと診断できる。

他の感染症と同様、遺伝子診断法は寄生虫感染症診断においても有用です。またマラリアを例にとりますが、遺伝子増幅診断法である PCR 法によるマラリア検査は、顕微鏡的検査、イムノクロマト法に比較しても検出感度が非常に高いという利点があります。また、5 種のマラリア原虫の鑑別、あるいは重複感染を明らかにすることも可能です。PCR 法は顕微鏡的検査法の補助診断法としてだけではなく、増幅された DNA を用いての、薬剤耐性の責任遺伝子配列や遺伝的背景の解析など、分子遺伝子学的研究への応用も可能となります。

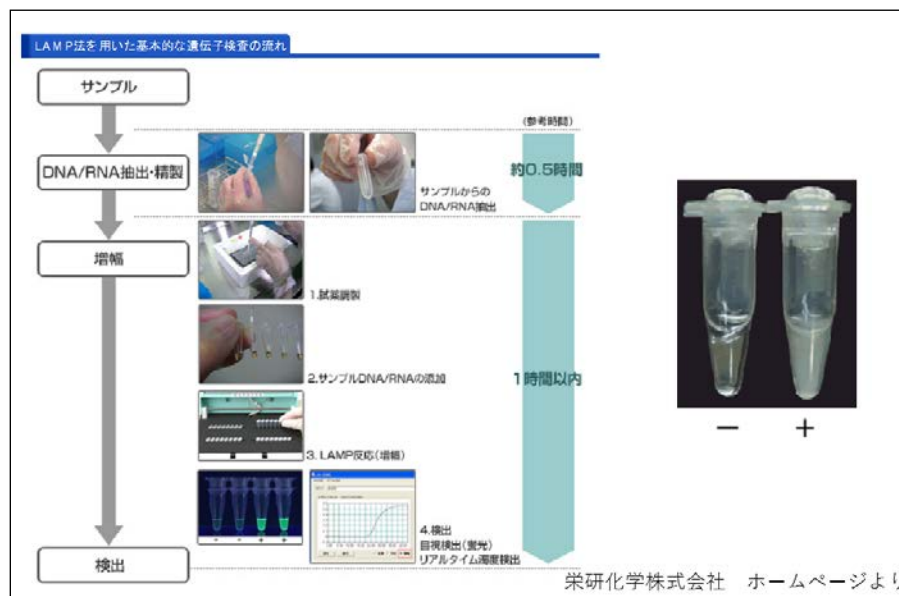
しかしながら、一般的には PCR 法は診断までに数時間を要し、比較的煩雑な操作が必要で、反応に際しては高価な機器・試薬が必要となります。結果として検査コストが高いということ、比較的手技が煩雑であること、加えて寄生虫感染症流行地である熱帯・亜熱帯地域においては、電気供給が不安定であったり、cold chain が不十分であったりといった問題点があるため、PCR 法は寄生虫感染症診断法として、現在のところ流行地における一般的な検査法にはなり得ていません。

注目される LAMP 法

そこで、寄生虫感染症における遺伝子診断法で注目されているのが LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法です。栄研化学株式会社が 2000 年に発表したこの方法は、PCR 法と同様に標的遺伝子の増幅を行って検出する検査ですが、全ての反応が等温で行われる事に特徴があります。そのため、反応に使用する機器は比較的安価に入手可能となります。また、増幅効率も高いため、30 分から 1 時間程度の短時間で診断が可能となります。さらに、検出においては増幅産物の副産物であるピロリン酸マグネシウムが白濁するため、機器を用いずに目視による検査判定が可能である

ことも、LAMP 法の迅速診断法としての利点となっております。結核、百日咳などの診断法として保険適用されており、信頼性の高い検査法です。寄生虫感染症診断法としては、これまで LAMP 法を用いた、マラリア、シャーガス病、アフリカ睡眠病、リーシュマニア症などの

診断法が開発・応用されています。また、LAMP 反応に必要な酵素は反応チューブの蓋に乾燥固着することができるため、室温で輸送・保管ができるなど、LAMP 法は寄生虫感染症流行地における簡易かつ



安価な迅速診断法として期待されています。

スマートフォンを用いた診断法

最後に、スマートフォンを使用した、寄生虫感染症診断についてご紹介いたします。これまで述べてきたように、寄生虫感染症流行地域の多くは低所得な国々であるため、診断に高価な検査機器・試薬、安定した電力供給が必要な診断法、あるいはトレーニングされた検査者が必要な診断法は、寄生虫感染症診断法としての普及が難しい状況にあります。

一方、携帯電話やスマートフォンはこれらの地域でも普及が進んでおり、特にスマートフォンはどこにでも携帯できること、コンピューター機能、カメラ機能をもつため、当該地域で高価な検査機器の代替品としての使用が検討され始めています。具体的には、寄生虫感染症診断のために、スマートフォンにレンズを装着する事で、安価な顕微鏡として使用する事に成功したという報告や、寄生虫形態診断のアルゴリズムを作製し、スマートフォンを用いた自動的な診断ツールを開発したといった報告がなされています。初めに、顕微鏡的な寄生虫診断の問題点についてお話ししましたが、人、物のリソースが限られた寄生虫感染症流行地域において、スマートフォンを用いた寄生虫形態診断は、トレーニングを受けた検査者が不要で、低コスト、かつどの地域でも実施可能であるため、今後寄生虫感染症流行地における、安価で簡易な迅速診断法として広く使用されるようになるかもしれません。