

# 日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

第12巻 第4号

昭和59年12月15日

## 内 容

### 原 著

- Diethylcarbamazine 治療時におけるオンコセルカ症患者の臨床像と  
治療検査成績の関係について (英文) .....坂本 信, 三森 龍之, 是永 正敬,  
多田 功, Zea G.F., Castro J.C. 231-238
- 沖縄県在住ベトナム難民の寄生虫感染状況 .....安里 龍二, 長谷川英男, 池城 毅 239-246
- 中国産ハットポダ毒よりホスホジエステラーゼの精製とその性質 (英文)  
.....杉原 久義, 二改 俊章, 小森由美子, 片田妃佐都, 森 信博, 岸田 充弘 247-254

### 学 術 記 録

- 日本熱帯医学会九州支部第8回大会講演要旨 .....255-273

### 会 報

- 昭和59年度第2回幹事会記録 .....275-276
- 国際熱帯医学・マラリア会議関係事項記録 (1) .....276-317
- 投稿規定

ONCHOCERCIASIS :  
A STUDY ON THE RELATION BETWEEN LABORATORY  
DATA AND REACTIONS ELICITED BY  
DIETHYLCARBAMAZINE

MAKOTO SAKAMOTO<sup>1</sup>, TATSUYUKI MIMORI<sup>2</sup>, MASATAKA KORENAGA<sup>2</sup>  
ISAO TADA<sup>2</sup>, GUILLERMO ZEA F.<sup>3</sup> AND JULIO CASTRO C.<sup>3</sup>

Received May 2 1984/Accepted September 28 1984

**Abstract:** Parasitological, haematological, immunological and clinical examinations were carried out on 29 Guatemalan patients with onchocerciasis. The patients were given diethylcarbamazine (DEC) treatment (5 mg/kg/day for 7 days) and then examined clinically the adverse reactions at 3, 12, 24, 48 and 72 hours after the initial administration of DEC. The essential features of the adverse reactions elicited by DEC administration were pruritus, rash, pain, lymphadenopathy and edema. The severity of those reactions was found to be roughly proportional to the eosinophil counts in blood and/or the serum level of *Onchocerca volvulus*-antigen specific IgG.

INTRODUCTION

Since Mazzotti reported that diethylcarbamazine (DEC) produced rather severe adverse reactions in the patients with onchocerciasis (Mazzotti, 1948), difficulties have been experienced in the use of DEC in mass treatment. The reactions were especially dangerous if the patients were heavily infected or debilitated (Buck, 1974; Fuglsang and Anderson, 1974; Bryceson *et al.*, 1977). Hawking (1952) reported that these reactions were presumably due to the destruction of microfilariae with the liberation of antigens which excited allergic response in patients. Garner *et al.* (1973) reported that the damaged microfilariae of *O. volvulus* or their products were not toxic when injected into normal animals, and therefore it was unlikely that these reactions were caused by themselves alone. There have been some haematological and immunological studies on the pathogenesis and the mechanisms of inflammatory reactions in the patients with onchocerciasis following DEC administration (Rodger, 1962; Henson *et al.*, 1979; Guerra-Caceres *et al.*, 1980). However, little is known on the relation between laboratory data before drug administration and the adverse reactions elicited. The present study aimed at the clarification of this point.

---

1 Department of Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan 2 Department of Parasitic Diseases, Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto, Japan 3 Departamento de Oncocercosis, Servicio Nacional de Erradicacion de la Malaria, Guatemala

## MATERIALS AND METHODS

Twenty-nine male patients were from the plantation "San Pedro Corona" in Chicacao Suchitepequz located southwest of the endemic area of onchocerciasis in Guatemala. Their age varied from 16 to 70 years old (average; 36.1 years old). Two skin snips were taken from the left scapular and iliac regions by a Holth type corneoscleral punch. Microfilarial density (MFD) was expressed as a total number of microfilariae (mf) emerged from two 10 mm<sup>2</sup> skin snips. Of these patients 24 were positive for microfilariae of *O. volvulus* by skin snip (mean MFD, 77.2/two 10 mm<sup>2</sup>), and 22 were positive for onchocercoma by palpation. The patients were classified into following four groups according to MFD; negative, low (1 to 50 mf), moderate (51 to 100 mf) and high density (101 and more) groups. They were treated with a single dose of pyrantel pamoate (Combantrin) at the dosage of 10 mg/kg body weight in order to expel intestinal parasites three weeks before the administration of DEC. All patients were admitted to National Amatitlan Hospital in Guatemala during treatment and examination period. Just before DEC administration, a total number of white blood cells (WBC) per cubic millimeter of blood from cubital vein was counted by conventional method and differential cell count was assessed in the smear after Giemsa staining. The *O. volvulus* specific IgG was assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using adult *O. volvulus* antigen before the initial dose of DEC. The amount of serum IgG was represented by optical density (OD).

The procedure was described elsewhere (Korenaga *et al.*, 1983). The patients were then given the oral dose of DEC (Hetrazan) at 5 mg/kg/day for 7 consecutive days. The adverse reactions were checked at 3, 12, 24, 48 and 72 hours after the initial administration of DEC. The reactions were classified into following four groups according to the severity.

No reaction (0): No recognizable signs and symptoms.

Mild reaction (+): Pruritus alone.

Moderate reaction (++) : More than two clinical manifestations among pruritus, rash, pain and lymphadenopathy.

Severe reaction (###): Edema and at least one of the following clinical manifestations; pruritus, rash, pain and lymphadenopathy.

The association between systemic complications and laboratory data was studied by using measures of association for I×J Tables in "Discrete Multivariate Analysis: Theory and Practice" edited by Bishop *et al.* (1975).

## RESULTS

Table 1 summarized the chronological changes in the clinical manifestations during DEC treatment. The essential feature of the clinical manifestations during DEC treatment were shown as follows; pruritus, rash, pain, lymphadenopathy and edema. Twenty-six of 29 patients experienced one or more of these manifestations.

Table 1 Frequency of elicited signs and symptoms during DEC treatment

Sign and symptom	Hours after the beginning of DEC treatment			
	3	24	48	72
Pruritus	16 (55%)	25 (86%)	18 (62%)	10 (34%)
Rash	3 (10%)	17 (59%)	17 (59%)	15 (52%)
Pain	1 (3%)	10 (34%)	9 (31%)	9 (31%)
Lymphadenopathy	2 (7%)	10 (34%)	9 (31%)	7 (24%)
Edema	1 (3%)	11 (38%)	14 (48%)	12 (41%)

Of 29 patients 25 experienced pruritus during this observation period, among them 16 complained the itching within three hours after the first dose of DEC (55%). At 24 hours, this rate reached the maximum (86%). After 48 hours, the number of patients with pruritus gradually decreased. Only in a few patients rash, pain, lymphadenopathy and edema were noted at three hours, while at 24 hours, the frequency of these manifestations reached 59, 34, 34 and 38 per cent respectively. Even after 48 hours, the frequency remained rather high. The pruritus appeared at various regions such as the face, neck, upper body and upper limbs. The rash was localized in the chest, scapular regions and upper limbs in most patients. The lymphadenopathy was noted more frequently in the inguinal region than the axillar one. The edema was localized in the face, chest and upper limbs, and when it appeared on the face, it was markedly severe than that in the other parts.

The relation between MFD and the severity of those adverse reactions is shown in Table 2 ( $\hat{V}=0.391$ ,  $\hat{\sigma}_\infty[\hat{V}]=0.154$ ). Out of 11 patients with high MFD, six experienced the severe (‡), four experienced the moderate (++) and one patient showed mild (+) reaction. Of 13 patients with moderate and low MFD (1–100), five showed severe reaction.

Table 2 Relation between the microfilarial density and adverse reactions seen in DEC treatment (29 patients)

MFD*	No. of case	Grade of reaction			
		0	+	++	‡
0	5	1	3	1	
1–50	10	2	1	4	3
51–100	3			1	2
100<	11		1	4	6

\* Number of microfilariae in two 10 mm<sup>2</sup> snips.

Among five cases of the microfilaria negative group, four patients showed no or mild reactions. The total number of WBC of the patients ranged from 7,000 to 18,000/mm<sup>3</sup> (mean;  $9,790 \pm 2,290/\text{mm}^3$ ) before DEC treatment. Of 11 patients

whose WBC counts were 10,000/mm<sup>3</sup> or more, 4 (36.4%) showed severe reaction (###). On the other hand, out of 18 patients with WBC counts less than 10,000/mm<sup>3</sup>, 7 (38.9%) showed severe reaction (Table 3;  $\hat{V}=0.374$ ,  $\hat{\sigma}_\infty[\hat{V}]=0.131$ ). Eosinophil counts in the all patients were higher than the normal level, ranging from 660 to

Table 3 Relation between the WBC counts and reaction

WBC counts/mm <sup>3</sup>	No. of case	Grade of reaction			
		0	+	++	###
<8,000	7		3	3	1
8,000-10,000	11	2		3	6
10,000<	11	1	2	4	4

Table 4 Relation between the eosinophil counts of peripheral blood and reaction

Eosinophil counts/mm <sup>3</sup>	No. of case	Grade of reaction			
		0	+	++	###
<1,000	4	1		3	
1,000-2,000	12	2	3	5	2
2,000<	13		2	2	9

Table 5 Relation between the number of neutrophil counts of peripheral blood and reaction

Neutrophil counts/mm <sup>3</sup>	No. of case	Grade of reaction			
		0	+	++	###
<4,000	8		3	2	3
4,000-5,000	9	3		3	3
5,000<	12		2	5	5

Table 6 Relation between the number of lymphocyte counts of peripheral blood and reaction

Lymphocyte counts/mm <sup>3</sup>	No. of case	Grade of reaction			
		0	+	++	###
<2,000	10		1	4	5
2,000-3,000	10	1	2	4	3
3,000<	9	2	2	2	3

4,250/mm<sup>3</sup> with the mean of 1,970±900/mm<sup>3</sup>. Nine (69.2%) of 13 patients whose eosinophil counts were 2,000/mm<sup>3</sup> or more showed severe reaction, while only 2 (12.5%) of 16 patients with eosinophils less than 2,000 showed severe reaction (Table 4;  $\hat{V}=0.483$ ,  $\hat{\sigma}_\infty[\hat{V}]=0.120$ ). A slight association with statistical significance between the severity of adverse reaction and the neutrophil counts was indicated (Table 5;  $\hat{V}=0.428$ ,  $\hat{\sigma}_\infty[\hat{V}]=0.130$ ). On the contrary, as seen in the Tables 6 ( $\hat{V}=0.260$ ,  $\hat{\sigma}_\infty[\hat{V}]=0.150$ ), there were no apparent relation between the severity of adverse reactions and lymphocyte counts.

The relation between the serum IgG levels of patients and the severity of reactions after DEC administration is shown in Figure 1. The average OD values±SD of

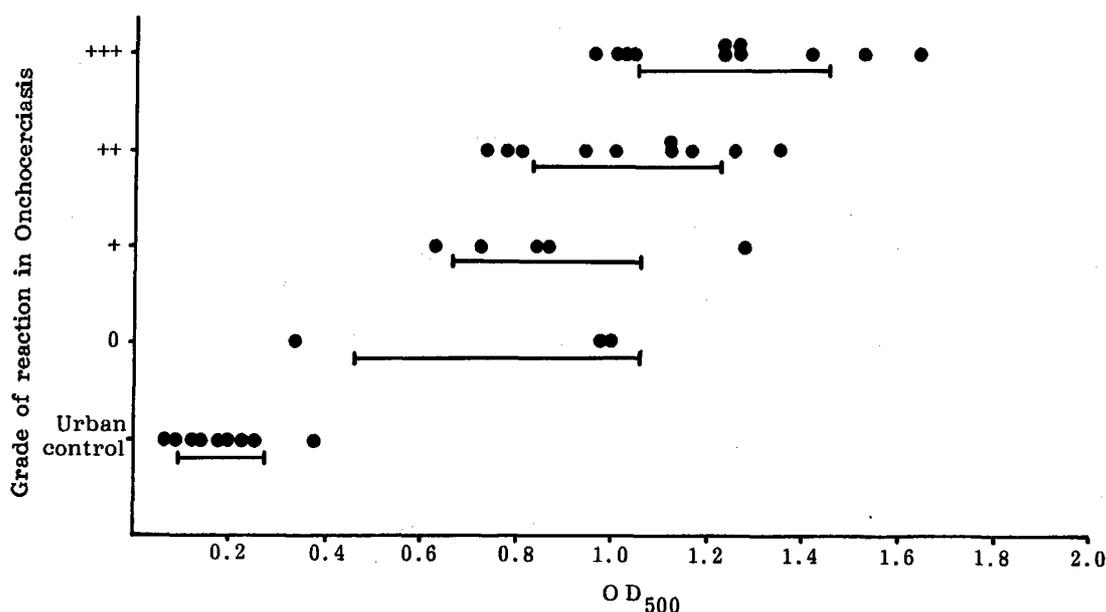


Figure 1 Relation between *O. volvulus*-specific IgG and reaction.

no, mild, moderate and severe reaction groups were  $0.76 \pm 0.30$ ,  $0.86 \pm 0.20$ ,  $1.03 \pm 0.20$  and  $1.25 \pm 0.20$ , respectively. The mean OD of 9 urban control sera in Guatemala was  $0.18 \pm 0.09$ . Ten (90.9%) of 11 patients who experienced severe reaction (###) showed higher OD (over 1.0). Only one of five patients with mild reaction (+) showed higher OD. In two of three patients without reactions, OD was near 1.0. As the OD for the onchocerciasis specific IgG increased the severity of adverse reactions after DEC administration tended to increase.

#### DISCUSSION

Although there were some reports which dealt with the change of blood eosinophil counts after DEC treatment in the patients with onchocerciasis (Guerra-Caceres *et al.*, 1980; Money, 1969), none of them described a relation between the severity of reactions elicited by DEC and eosinophil counts before treatment. In this study, we clarified that the patients with high eosinophils showed severe adverse reactions. Of four patients with the eosinophils less than 1,000/mm<sup>3</sup>, nobody showed

severe reaction (###). The eosinophil counts in blood is thus likely to be used in predicting the severe reactions in the patients with onchocerciasis following DEC administration. With regard to the role of eosinophil in filarial infection, Spry (1981) reported that the eosinophils released their granule products in response to the presence of microfilariae in the patients with filariasis, and these products could induce local or systemic reactions. In the tissues, the accumulation and degranulation of eosinophils occurred in patients with onchocerciasis around microfilariae or adult worm which were damaged by DEC treatment, and this could give rise to some of the clinical features of the Mazzotti reaction (Guerra-Caceres *et al.*, 1980; Mimori, in press). By DEC treatment, neutrophil counts increased and the relation between clinical manifestations and neutrophils has been discussed (Henson *et al.*, 1979; Sakamoto and Zea, 1983). In this study, a slight association with statistical significance between systemic complications and neutrophil counts was observed. However, lymphocyte counts in blood before DEC treatment were within normal level in most patients, and were not related to the severity of adverse reactions.

ELISA clarified the relation between the serum level of *O. volvulus*-specific IgG and the severity of adverse reaction. The higher the OD of serum samples, the higher was the severity of reactions. However, three patients with higher level of IgG did not show severe reactions. Various factors would be involved in these cases, such as anti-complement factors, poor antigenicity, acquisition of host antigen, immunotolerance and blocking antibodies (Henson *et al.*, 1979). Greene *et al.* (1983) reported that very high pretreatment circulating immune complexes (CIC) levels were associated with an increase of ocular and systemic complications. The present study revealed that high eosinophil count in blood and/or high serum level of IgG were indicative laboratory data for severe adverse reactions caused by DEC treatment. A special precaution should be taken to treat such patients.

In the present study, the essential features of the clinical manifestations after DEC treatment were pruritus, rash, pain, lymphadenopathy and edema. The number of patients with pruritus, rash, pain, lymphadenopathy and edema reached the maximum at 24, 24, 24, 24 and 48 hours, respectively. The number of patients who complained of itching was decreased at 72 hours, while the other clinical manifestations remained stationary. Bryceson *et al.* (1977) reported that adverse reactions mentioned here appeared half an hour to 12 hours after DEC administration and continued for minutes, hours, or days.

Taylor *et al.* (1980) reported that pruritus appeared within 12 to 36 hours, the rash started between days 1 and 3 in most cases, lymphadenopathy and edema occurred between days 3 and 7. Our results observed are essentially similar to that of Taylor *et al.*

There are some reports which described that the severe reactions occurred in the patients with heavy infection of *O. volvulus* (Buck, 1974; Fuglsang and Anderson, 1974; Bryceson *et al.*, 1977; Martinez and Tello, 1952). On the other hand, Greene *et al.* (1983) reported that pretreatment skin microfilaria counts showed a weak correlation with the total number of ocular and systemic complications after DEC treatment. Our study showed that six of 11 patients with high MFD experienced

severe reaction (###), and as many as five out 13 patients with moderate and low MFD showed severe reactions. The patients with high MFD tended to show severe reactions, although some of the patients with low or moderate MFD showed severe reaction. This finding suggests that the number of eosinophil counts, serum immunoglobulin level such as IgG and IgE and the circulating immune complexes are more important factors than MFD, which predict severe adverse reactions by DEC administration.

#### ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by the Overseas Scientific Research Grants No. 57041041 from the Ministry of Education of Japan. We wish to thank Dr. H. A. Gody, Director de Servicio Nacional de Erradicacion de la Malaria, Ministerio de Salud Publica, Guatemala, and his colleagues for their kind cooperation. We also highly appreciate Dr. T. Suzuki, JICA, for his encouragement and Dra. Mariantonieta of Amatitlan Nacional Hospital for the kind cooperation.

Appreciation is also expressed to Dr. T. Yoshimura, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu, Japan, for his helpful criticism and suggestions in the preparation of the manuscript.

#### REFERENCES

- 1) Bishop, Y. M. M., Fienberg, S. E. and Holland, P. W. (1975): Discrete Multivariate Analysis: Theory and Practice. 385-387, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts and London.
- 2) Bryceson, A. D. M., Warrell, D. A. and Pope, H. M. (1977): Dangerous reactions to treatment of onchocerciasis with diethylcarbamazine, Br. Med. J., 1, 742-744
- 3) Buck, A. A. (1974): Onchocerciasis: Symptomatology, Pathology, Diagnosis, WHO Geneva.
- 4) Fuglsang, H. and Anderson, J. (1974): Collapse during treatment of onchocerciasis with diethylcarbamazine, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 68, 72-73
- 5) Garner, A., Duke, B. O. L. and Anderson, J. (1973): A comparison of the lesions produced in the cornea of rabbit eyes by microfilaria of the forest and Sudan savanna strain of *Onchocerca volvulus* from Cameroon, II. The pathology, Z. Tropenmed. Parasit., 24, 385-396
- 6) Greene, B. M., Taylor, H. R., Brown, E. J., Humphrey, R. L. and Lawley, T. J. (1983): Ocular and systemic complications of diethylcabamazine therapy for onchocerciasis: Association with circulating immune complexes. J. Infect. Dis., 5, 890-897
- 7) Guerra-Caceres, J. G., Bryceson, A. D., Quakyi, I. and Spry, C. J. F. (1980): Studies on the mechanisms of adverse reactions produced by diethylcarbamazine in patients with onchocerciasis-Mazzotti reaction, Parasit. Immunol., 2, 121-131
- 8) Hawking, F. (1952): A histological study of onchocerciasis treated with Hetrazan. Br. Med. J., 1, 992-994
- 9) Henson, P. M., Mackenzie, C. D. and Spector, W. G. (1979): Inflammatory reactions in onchocerciasis: a report on current knowledge and recommendations for further study. Bull. WHO., 27, 429-448
- 10) Korenaga, M., Tada, I., Lujan, T. A., Sakamoto, M., Zea, G. F., Castro, J. C. and Yarzabal, L. (1983): Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in the detection of IgG antibodies in onchocerciasis using blood collected on filter paper. Jap. J. Parasit., 32, 16-24
- 11) Martinez, B. M. and Tello, P. R. (1952): Modificaciones en la eosinofilia de los oncocercosos

- consecutivas a la del 'Hetrazan'. *Medicina (Mexico)*, 32, 497
- 12) Mazzotti, L. (1948): Posibilidad de utilizar como medio diagnostico auxiliar en la oncocercosis, las alergicas consecutivas a la administracion del 'Hetrazan'. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.*, 9, 235-237
  - 13) Mimori, T.: A histopathological study of the skin and nodule during the course of diethylcarbamazine treatment in onchocerciasis, *Jap. J. Parasit.*, (in press)
  - 14) Money, G. L. (1969): 'Hetrazan' eosinopenia in onchocerciasis. A preliminary communication. *J. Trop. Med. Hyg.*, 63, 238-241
  - 15) Rodger, F. C. (1962): A review of recent advances in scientific knowledge of the symptomatology, pathology and pathogenesis of onchocercal infections. *Bull. Wld Hlth Org.* 27, 429-448
  - 16) Sakamoto, M. and Zea, G. F. (1983): The change of blood picture of patients with onchocerciasis following administration of diethylcarbamazine. *Trop. Med.*, 25, 47-50
  - 17) Spry, C. J. F. (1981): Alterations in blood eosinophil morphology, binding capacity for complexed IgG and kinetics in patients with tropical (filarial) eosinophilia. *Parasit. Immunol.*, 3, 1-11
  - 18) Taylor, H. R., Greene, B. M. and Langham, M. E. (1980): Controlled clinical trial of oral and topical diethylcarbamazine in treatment of onchocerciasis. *Lancet*, 943-946

### Diethylcarbamazine 治療時におけるオンセルカ症患者の臨床像と 治療前検査成績の関係について

坂本 信<sup>1</sup>・三森 龍之<sup>2</sup>・是永 正敬<sup>2</sup>・多田 功<sup>2</sup>  
Zea, G. F.・Castro, J. C.

中米グアテマラ国のオンコセルカ症患者29名について DEC (5mg/kg/day 7日間) で治療し、その時におこる臨床像の観察と治療前における検査成績より、治療時における臨床像の重症度を予測した。治療時の主な反応は掻痒感、疼痛、発疹、発赤、リンパ節腫脹、浮腫であった。これらは DEC 投与による炎症性反応であると考えられた。これら炎症性反応の重症度と治療前の検査成績の関係においては末梢血中の好酸球及び *O. volvulus*-antigen specific IgG との間に強い相関がみられ、治療上これらの成績の高い患者には十分な注意が必要と考えられた。

---

1 長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学部門 2 熊本大学医学部寄生虫病学教室 3 グアテマラ共和国マラリア防圧本部オンコセルカ部  
本研究は文部省海外学術調査費によった。

## 沖縄県在住ベトナム難民の寄生虫感染状況

安里 龍二<sup>1</sup>・長谷川英男<sup>2</sup>・池城 毅<sup>3</sup>

昭和59年6月21日 受付/昭和59年10月16日 受理

## 緒 言

インドシナにおける長期の動乱は、夥しい難民を産み出した。特にベトナムでは、戦争終了(1975年)後、新政府の政策や生活に不満を持つ多数の人々が、いわゆるボート・ピープルとして脱出し、大きな国際問題となっている。漂流中に救助されたベトナム難民は主として先進諸国に収容され、一部は定住が認められている。わが国では1975年にベトナム難民の一時収容が開始されて以来、1983年3月末までに収容難民数は7,477名に達している。沖縄県では1977年6月、八重山群島与那国島に85名のベトナム難民が漂着したのが最初であるが、1978年9月に沖縄本島本部町の日本赤十字本部国際友好センターでベトナム難民の一時収容が開始され、以来現在までに延べ1,033名が収容されてきた。

ベトナムは熱帯に位置し、多くの感染症が蔓延している地域であり、また低栄養状態、非衛生的環境が加わって、難民の健康は著しく損われている。更にこれら難民と共に感染症が持ち込まれ、収容地の住民に影響を与えることが考えられる。沖縄県はわが国では唯一の亜熱帯に属する地域であり、ベトナム難民が順化するには都合のよい風土であるが、また一旦感染症が持ち込まれた場合には、二次的感染、土着化が容易に起こりうる環境でもある。本部国際友好センターでは難民の健康を増進し、感染症の伝播を防ぐために、健康診断、治療を積極的に行っているが、著者らはそのうち寄生虫の検査を担当してきた。本論文はこれ

までの結果をまとめ、問題点について考察したものである。

## 調 査 方 法

調査は1977年9月から1982年7月の間に行われた。消化管寄生蠕虫および原虫の検査は原則として、入所後数カ月以内に行われる健康診断時に行い、集めた糞便は翌日、沖縄県公害衛生研究所(大里村)にて直接塗抹法、MGL法、試験管内濾紙培養法を併用して検査した。原虫囊子の検査にはMGL法を用い、ヨード染色を施して検鏡した。住血性寄生虫の検査は午後9時以降に耳朶から採血し、厚層塗抹法ギムザ染色によって行った。自覚症状の調査は予め準備したアンケート用紙を通訳を介して記入させた。また、駆虫薬の投与は名護保健所長の指示により、面前にて服用させた。投薬後1カ月目に再検査を行って駆虫効果を判定した。

## 結 果

## 1. 消化管寄生蠕虫類

662名の検査を行い、その内441名(67.1%)に1種以上の寄生蠕虫を認めた(表1)。内訳は線虫類6種(回虫、鉤虫3種、鞭虫、糞線虫)、条虫類2種(小形条虫、無鉤条虫)、吸虫類2種(肥大吸虫、肝吸虫)の計10種であった。このうち虫卵保有率が最も高いのは回虫で、次いで鞭虫、鉤虫類の順であり、その他の寄生蠕虫の保有率は著しく低く、条虫類、吸虫類の寄生は1%以下で

1 沖縄県公害衛生研究所 〒901-12 沖縄県大里村大里高嶺原2085

2 琉球大学医学部寄生虫学教室 〒903-01 沖縄県西原町上原宮里207

3 沖縄県予防医学協会 〒903 沖縄県那覇市首里平良町1-23-3

Table 1 Prevalence of intestinal helminths in Vietnamese refugees residing in Okinawa Prefecture

Year of examination	1977	1979	1980	1981	Total
No. of persons examined	79	329	198	56	662
No. of persons infected (Incidence, %)					
<i>Ascaris lumbricoides</i>	49 (62.9)	173 (52.6)	119 (60.1)	32 (57.1)	373 (56.3)
<i>Trichuris trichiura</i>	17 (21.5)	86 (26.1)	29 (14.6)	12 (21.4)	144 (21.8)
Hookworms	2 (2.5)	60 (18.2)	45 (22.7)	15 (26.8)	122 (18.4)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0	10 (3.0)	3 (1.5)	2 (3.6)	15 (2.3)
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0	3 (1.5)	0	3 (0.5)
<i>Taenia saginata</i>	0	0	1 (0.5)	0	1 (0.2)
<i>Fasciolopsis buski</i>	0	1 (0.3)	0	0	1 (0.2)
<i>Clonorchis sinensis</i>	0	0	0	1 (1.8)	1 (0.2)
Total	53 (67.1)	208 (63.2)	141 (71.2)	42 (75.0)	444 (67.1)

あった。鉤虫類は濾紙培養で陽性が確認された106名中、103名がアメリカ鉤虫、2名がズビニ鉤虫と同定されたが、残る1名の培養便から得たフィラリア型幼虫はズビニ、アメリカ両種のものとは異なり、固有虫体の大きさ 630~650×22.5~25.0 $\mu$ 、被鞘を含む大きさ 700~750×27.5~32.5 $\mu$ 、食道長 157.5~162.5 $\mu$ 、尾長 72.5~77.5 $\mu$ であった。無鉤条虫は自然排泄された片節5個が得られた(図1)。肥大吸虫卵(大きさ 130~147.5×85.0~92.5 $\mu$ ; 図2)と肝吸虫卵(大きさ 27.5~32.5×13.8~17.5 $\mu$ ; 図3)は各1名に検出された。

消化管寄生蠕虫類保有者の61.5%は1種のみのものであったが、29.7%は2種、7.7%は3種寄生しており、4種寄生も5名(1.1%)にみられた。

年齢別ではほとんどの年齢層で50%以上の高い

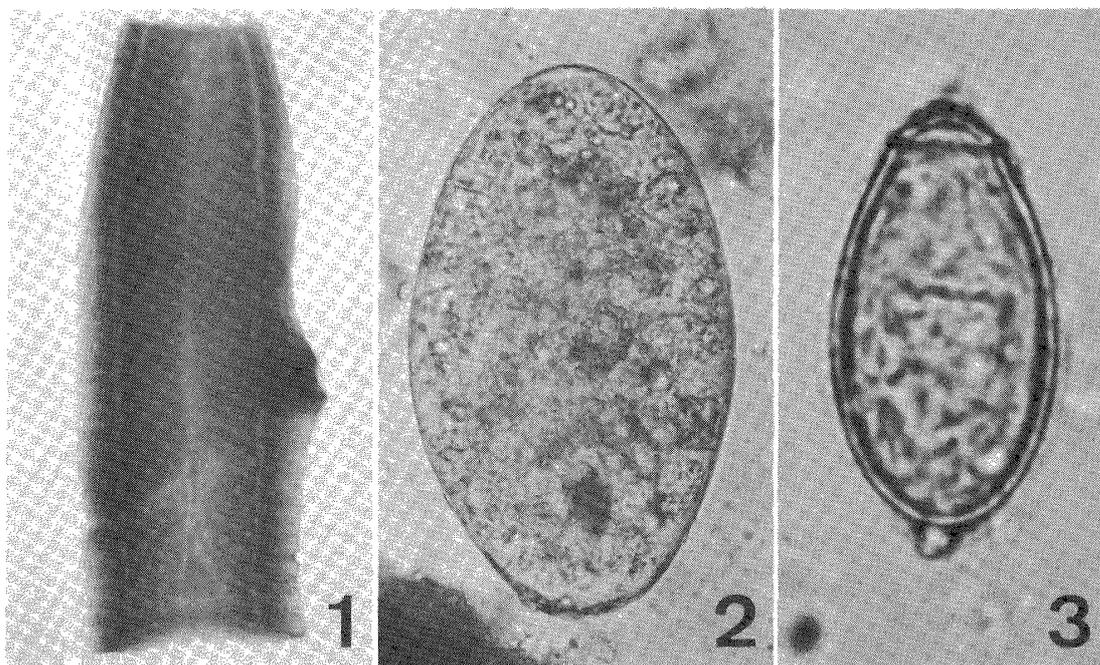
保有率を示し、特に10代、20代、40代では70%以上であった(表2)。回虫、鞭虫保有率は10歳未満の小児と20歳以上の成人の間で差はみられなかった。しかし鉤虫では小児の7.4%に対し成人は約3倍の21.6%の保有率を示した。性別では回虫卵保有率が男女ともほぼ同じであったのに対し、鞭虫卵、鉤虫卵、糞線虫幼虫の保有率はいずれも男性が高く、特に糞線虫幼虫保有者は全て男性であった。

## 2. 消化管寄生原虫類

消化管寄生原虫類の検査は274名について行い(表3)、その内50名(18.2%)に原虫嚢子を認めた。内訳は小形アメーバ31名(11.3%)、大腸アメーバ13名(4.7%)、ランブル鞭毛虫10名(3.6%)で、赤痢アメーバは検出されなかった。

## 3. 住血性寄生虫類

血液検査は311名について行ったが、マラリア



Figures 1-3 Parasites found in the feces of Vietnamese refugees. 1. *Taenia saginata* proglottid ( $\times 7$ ). 2. *Fasciolopsis buski* egg ( $\times 460$ ). 3. *Clonorchis sinensis* egg ( $\times 1,760$ ).

Table 2 Prevalence of intestinal helminths in Vietnamese refugees by age and sex

Age group	Male		Female		Total	
	No. of persons examined	Positive rate (%)	No. of persons examined	Positive rate (%)	No. of persons examined	Positive rate (%)
0-9	75	66.7	74	51.4	149	59.1
10-19	147	74.2	47	68.1	194	72.7
20-29	133	73.7	81	64.2	214	70.1
30-39	46	65.2	25	48.0	71	59.2
40-49	17	70.6	10	80.0	27	74.1
over 50	4	50.0	3	33.3	7	42.9
Total	422	71.3	240	59.6	662	67.1

原虫, ミクロフィラリアは見出されなかった。

#### 4. 自覚症状

蠕虫保有者 205名に行った自覚症状調査では, 75.6%が何らかの症状を訴えた。最も多かったのは腹痛 (31.2%) で, 次いで頭痛 (25.9%), 食欲不振 (22.4%), 腹部膨満感 (17.6%), 全身倦怠感 (16.1%), 便秘 (12.2%), 発熱 (10.7%),

めまい (10.2%) の順であった。

#### 5. 好酸球増多

蠕虫保有者 145名中, 8%以上の好酸球増多を示したものは29.7%であり, 一方蠕虫が検出されなかった52名中でも25%に好酸球増多が認められた。

#### 6. 駆虫成績

Table 3 Prevalence of intestinal protozoans in Vietnamese refugees

Sex of refugees	Male	Female	Total
No. of persons examined	185	89	274
No. of persons infected			
(Incidence, %)			
<i>Entamoeba coli</i>	6 (3.2)	7 (7.9)	13 (4.7)
<i>Endolimax nana</i>	18 (9.7)	13 (14.6)	31 (11.3)
<i>Giardia lamblia</i>	8 (4.3)	2 (2.2)	10 (3.6)
Total	30 (16.2)	20 (22.5)	50 (18.2)

回虫, 鉤虫, 鞭虫保有者にはピランテル・パモエート 10 mg/kg を投与し, 1 カ月後の検査で回虫保有者 274名中 247名 (90.1%), 鉤虫保有者 96名中 57名 (59.4%), 鞭虫保有者 104名中 26名 (25.0%) に虫卵の陰転が認められた。肥大吸虫保有者もピランテル・パモエート 10 mg/kg 投与で陰転化した。

### 考 察

本調査で得られた成績では, 蠕虫類のうち土壤伝播性線虫類の寄生が著しく, 特に回虫が半数以上にみられ, 鞭虫, 鉤虫は共に約 1/5 の難民に見出された。これまで報告されたベトナム難民の寄生虫調査 (Löscher *et al.*, 1980; Picher and Aspöck, 1980; Lerman *et al.*, 1982) でも, 検出率は低いものの回虫が最も高率 (24.8-41%) を示し, 鞭虫 (6-14.2%) と鉤虫 (8-12.2%) がほぼ等しい寄生率となっている。但し建野ら (1982) の成績では鞭虫 (6.8%) は鉤虫 (27.3%) の約 1/4 の保有率である。ベトナム難民に回虫が多く鉤虫が少ないことは, ラオス・カンボジア難民に鉤虫が多く回虫が少ないこと (Lindes, 1979; Wiesenthal *et al.*, 1981; Tateno *et al.*, 1981; Lerman *et al.*, 1982; Keittivuti *et al.*, 1982; 建野ら, 1982) と対照的であり, ベトナム難民に特徴的な傾向と思われる。一方, ベトナム国内での

検査成績では, 農村部で回虫より鉤虫が高率に見出され, 逆に都市とその近郊では鉤虫より回虫が高率であることが知られている (Goodrich, 1967; Kim *et al.*, 1970; Colwell *et al.*, 1971)。従って難民の寄生虫感染状況は都市型であるといえるが, これは難民の多くが都市とその近郊の出身者であることに関連しているものと思われる。ところで, 都市部と農村部でこのような差が生ずる原因について Kim *et al.* (1970) と Colwell *et al.* (1971) は異なった見方をしているが, いずれも現象を十分に説明していない。恐らく農村部と都市部における食習慣, 生活様式の違いが, 寄生虫の種による虫卵の発育条件, 抵抗性, 感染様式の差と関連しながら寄生率の違いをもたらすものと考えられる。条虫類, 吸虫類はベトナム難民には一般に低率であることが知られているが, 本調査でも同様な傾向が認められた。肝吸虫類はラオス・カンボジア難民には高率に見出されるが, これは食習慣の違いによるものであろう。

今回 1 例から検出されたズビニ, アメリカ両種と異なったフィラリア型幼虫は, 大きさがセイロン鉤虫についての Yoshida (1971) の値よりはやや小さいが, 影井ら (1978) がベトナム難民から得たセイロン鉤虫のフィラリア型幼虫の値にほぼ一致していたことから, セイロン鉤虫と推定した。また肝吸虫卵は大きさがタイ肝吸虫卵より肝吸虫卵に近いので, 肝吸虫としたが, 両者の虫卵での

区別は困難であるため、今回見出されたものがタイ肝吸虫である可能性もある。Tateno *et al.* (1981) はベトナム難民の1例をタイ肝吸虫であろうとしている。肥大吸虫卵は肝蛭卵との区別が困難であるが、ピランテル・パモエートによる駆虫が奏効したので、今回のものを肥大吸虫と同定した。なお、無鉤条虫、肥大吸虫が確認されたのは本邦に収容されたベトナム難民では初めてと思われる。

蠕虫保有者は75%が何らかの自覚症状を訴えていたが、そのうち腹痛、食欲不振、腹部膨満感等の多くは蠕虫寄生と関連を有するものと考えられ、寄生が難民の生活に大きく影響していることが推測される。また好酸球増多を示した比率は、蠕虫保有者群と蠕虫の証明されなかった群の間でほとんど差はなかった。このことは今回の検査で検出されなかった蠕虫感染が存在する可能性を示唆していると考えられる。

沖縄県ではかつて各種の腸管寄生蠕虫類が広く蔓延し、寄生率は著しく高かった (Hunter *et al.*, 1951; 佐々ら, 1958) が、集団検査、駆虫、生活状態の改善、衛生知識の普及等によって、寄生虫感染は激減し、現在では糞線虫等がみられるに過ぎない (沖縄県予防医学協会, 1982)。今日では糞便の処理は衛生的に行われており、寄生虫の生活環はほぼ完全に断ち切られているといえる。従ってベトナム難民に腸管寄生蠕虫が高率に見られるとしても、現在の沖縄県民にとって大きな危険性を有するものではないと考えられる。

病原性腸管寄生原虫類は難民での寄生率がベトナム国内での寄生率より高い報告が多い (Picher and Aspöck, 1980; Löscher *et al.*, 1980; 建野ら, 1982)。本調査でもランブル鞭毛虫は比較的高値を示したが、赤痢アメーバは検出されなかった。しかし赤痢アメーバは重要な病原性アメーバで、アメーバ性肝膿瘍を起こしたベトナム難民の例もあり (天野ら, 1983)、また他者への感染も比較的容易に起こりうるので警戒が必要である。

本調査では血液から寄生虫を検出することはできなかった。ベトナムはバンクロフト、マレー両糸状虫が分布している地域である (Sasa, 1976)

が、難民の多くが都市部の出身者であるためか、他の難民調査成績でもマイクロフィラリアを検出した例はみあたらない。一方、マラリアに関しては、難民に時々発症が報じられており (田村ら, 1981; 大友ら, 1981; 荒木ら, 1981; 金ら, 1983)、沖縄県に収容されたベトナム難民にもこれまで3例の三日熱マラリアが発生している (安里, 長谷川, 1981; 祖堅ら, 1983)。そのうち1例は入所後1年2カ月経過してから発症し、再発例と考えられた。また他の1例は収容後に出生した新生児の症例で、ベトナム難民から輸血を受けた後に発症したものである。この例では母体、供血者いづれからも事後の血液検査でマラリア原虫を証明することはできなかった。これらの事例はマラリア原虫を保有した難民が長期にわたって滞在していることを示しており、この状態は既に土着に近いものといえる。沖縄県はかつてフィラリアと共にマラリアの流行地であり、媒介蚊の繁殖に好適な条件を有している。事実、現在難民が収容されている友好センターで捕獲された蚊の中にもマラリア媒介種であるシナハマダラカが含まれている (宮城ら, 私信)。従って現在の状態が長く続けばマラリアの土着化が起こる危険性が大きい。

以上のように、ベトナム難民には高率に種々の蠕虫、原虫が寄生して難民の健康を害しており、更にその一部は収容施設周辺の住民に影響を及ぼす可能性を有している。従ってベトナム難民の受け入れに際しては十分な寄生虫対策がとられなければならない。即ち、入国時に速やかに糞便検査、血液検査を行い、またその後も定期的に検査を反復することが必要であり、特に赤痢アメーバ、マラリア原虫については血清学的検査によるスクリーニングも実施して、検出率を高めることが望まれる。また寄生の認められた難民には十分に治療を行い、完全な駆虫が確認されるまで検査、治療を続けることが必要であろう。更にマラリア、フィラリア症が発生した際に、二次的感染、土着化の起こる可能性を予測するために、難民収容施設周囲の媒介蚊相を把握しておくことも重要である。

## 要 約

沖縄県に収容されたベトナム難民662名について消化管寄生蠕虫類の調査を行い、444名(67.1%)に寄生を認めた。回虫が最も高率(56.3%)で、次いで鞭虫(21.8%)、鉤虫(18.4%)、糞線虫(2.3%)の順であり、他に小形条虫(3名)、無鉤条虫、肥大吸虫、肝吸虫(各1名)がみられた。年齢別ではほとんどの年齢層で50%以上の高い保有率を示し、性別では男子の保有率が高かった。これら蠕虫類の寄生状況はベトナム国内での都市部のものに類似していた。消化管寄生原虫類の調査は274名について行い、50名(18.2%)に原虫嚢子を認めた。内訳はランブル鞭毛虫(3.6%)、大腸アメーバ(4.7%)、小形アメーバ(11.3%)

で、赤痢アメーバは検出されなかった。住血性寄生虫の検査は311名について行ったが、マラリア原虫、ミクロフィラリアは証明されなかった。ベトナム難民の寄生虫が難民自身並びに収容施設周辺の住民に与える影響、及び対策等について論じた。

## 謝 辞

本調査に御協力を頂いた沖縄県名護保健所比嘉政昭所長、島袋憲氏並に検査室各位、日本赤十字社沖縄県支部仲原英敏国際友好センター所長、兼本幸三郎氏、照屋全豊氏、浦崎廣子氏、ファン・ディン・コア・ロン氏、グエン・ギア・フン氏、沖縄県予防医学協会泉川ツヤ子氏に謝意を表します。

## 文 献

- 1) 天野博之, 田畑隆文, 森田 博, 猪木正三, 荒木恒治 (1983): ベトナム難民に見られたアメーバ性肝膿瘍例, 日熱医学会誌., 11 (2), 130-131
- 2) 荒木恒治, 森田 博, 瀬川武彦, 猪木正三, 天野博之, 赤沢寛治 (1981): ベトナム難民の検診結果—1980年奈良県下グループと1977年滋賀県下のグループを比較して—, 日熱医学会誌., 9 (2), 118-119
- 3) 安里龍二, 長谷川英男 (1981): 沖縄県における輸入マラリアの現状, 寄生虫誌., 30 (6), 527-531
- 4) Colwell, E. J., Welsh, J. D., Bonne, S. C. and Legters, L. L. (1971): Intestinal parasitism in residents of the Mekong Delta of Vietnam, Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth., 2 (1), 25-28
- 5) Goodrich, I. (1967): Prevalence of intestinal nematodes in civilian, adult, some Vietnamese population, Am. J. Trop. Med. Hyg., 16 (6), 746-749
- 6) Hunter, G. W. III., Ritchie, L. S., Pan, C. and Lin, S. (1951): Parasitological studies in the Far East. XI. An epidemiological survey of Okinawa, Ryukyu Islands, 406 Medical General Laboratory, Japan Logistical Command Bulletin 3, 29 pp.
- 7) 影井 昇, 木畑美知江, 浅野和人 (1978): ベトナム難民に対する腸管寄生虫類の検査. 特にセイロン鉤虫感染者について, 日熱医学会誌., 6 (1), 43-49
- 8) Keittivuti, B., D'agnes, T., Keittivuti, A. and Varavaidya, M. (1982): Prevalence of schistosomiasis and other parasitic diseases among Cambodian refugees residing in Bang-Kaeng Holding Center, Prachinburi Province, Thailand, Am. J. Trop. Med. Hyg., 31 (5), 980-990
- 9) Kim, J. H., Yoon, J. J., Lee, S. H. and Seo, B. S. (1970): Parasitological studies of Korean Forces in South Vietnam. II. A comparative study on the incidence of intestinal para-

- sites, *Korean J. Parasit.*, 8 (1), 30-35
- 10) 金 光明, 上野山裕己, 吉村文秀, 富次貞造, 中林敏夫 (1983): 新生児期に発症したマラリアの1例, *日熱医学会誌.*, 11 (2), 130
  - 11) Lerman, D., Barrett-Connor, E. and Norcross, W. (1982): Intestinal parasites in asymptomatic adult Southeast Asian immigrants, *J. Fam. Prac.*, 15 (3), 443-446
  - 12) Lindes, C. (1979): Intestinal parasites in Laotian refugees, *J. Fam. Prac.*, 9 (5), 819-822
  - 13) Löscher, T., Prüfer, L. and Sonnenburg, F. F. von (1980): Intestinal Parasiten bei vietnamesischen Flüchtlingen, *Deu. Med. Woch.*, 105 (14), 488-489
  - 14) 沖縄県予防医学協会 (1982): 鉤虫病予防特別対策, *事業年報*, 11, 184-185
  - 15) 大友弘士, 日置敦巳, 中林敏夫, 海老沢功, 石崎 達 (1981): 1977-1979年におけるマラリア患者184人の感染状況に関する疫学的考察, *日熱医学会誌.*, 9 (2), 101
  - 16) Picher, O. and Aspöck, H. (1980): Häufigkeit und Bedeutung parasitärer Infektionen bei vietnamesischen Flüchtlingen, *Wiener Med. Woch.*, (5), 190-193
  - 17) Sasa, M. (1976): *Human Filariasis: A Global Survey of Epidemiology and Control*, University of Tokyo Press, 819 pp.
  - 18) 佐々 学, 照屋寛善, 池宮喜春, 国吉真英, 城間盛吉, 金城 進 (1958): 沖縄農村の寄生虫罹患状況について, *日本医師会誌.*, 39 (9), 601-604
  - 19) 祖堅 尚, 伊之幸信, 小堂欣弥, 照屋 彰, 比嘉政昭, 安次嶺馨, 安里龍二 (1983): 交換輸血後に発症した新生児マラリアの1例, 52回日本感染症学会西日本地方会総会プログラム, 24
  - 20) 田村遵一, 脇 誠治, 五十嵐郁男, 長谷川誠, 石川晋介, 鈴木 守, 田辺和桁, 高田季久 (1981): 難民集団内の潜在マラリア検索における間接蛍光抗体法の有用性, *日熱医学会誌.*, 9 (2), 100
  - 21) Tateno, S., Takeuchi, T., Kobayashi, S., Tanabe, M., Miura, S. and Asami, K. (1981): Health status of Indochina refugees in Japan: Prevalence of intestinal parasites and eosinophilia, *Jpn. J. Parasit.*, 30 (5), 485-496
  - 22) 建野正毅, 大塚英司, 伊藤秀夫, 亀谷志郎, 上田利久, 斉藤竜太, 竹内 勤, 小林正規, 三浦左千夫, 浅見敬三 (1982): インドシナ難民の健康調査, *日本医事新報*, (3047), 47-51
  - 23) Wiesenthal, A. W., Nickels, M. K., Hashimoto, G., Endo, T. and Ehrhard, H. (1980): Intestinal parasites in Southeast-Asian refugees, *JAMA*, 244 (22), 2543-2544
  - 24) Yoshida, Y. (1971): Comparative studies on *Ancylostoma braziliensis* and *Ancylostoma ceylanicum*. 2. The infective larval stage, *J. Parasit.*, 57 (5), 990-992

## PREVALENCE OF PARASITES AMONG VIETNAMESE REFUGEES RESIDING IN OKINAWA PREFECTURE, JAPAN

RYUJI ASATO<sup>1</sup>, HIDEO HASEGAWA<sup>2</sup> AND TSUYOSHI IKESHIRO<sup>3</sup>

Received June 21 1984/Accepted October 16 1984

Parasitological surveys were carried out on the fecal and blood samples from the Vietnamese refugees living in the Motobu House for the Vietnamese, Motobu, Okinawa, Japan. Intestinal helminths were detected in 444 (67.1%) of 662 refugees examined. *Ascaris* infection was the most prevalent (56.3%), followed by *Trichuris* (21.8%), hookworms (18.4%) and *Strongyloides* (2.3%) infections. *Hymenolepis nana* infection was observed in three cases, and *Taenia saginata*, *Fasciolopsis buski* and *Clonorchis sinensis* infections in each one case. In almost all age groups, the prevalence was over 50 per cent, and incidence of infection was higher in males than in females. In general, the condition of helminthic infections in the refugees resembled those reported in the urban areas in South Vietnam. Intestinal protozoans were observed in 50 (18.2%) of 274 persons examined. *Endolimax nana* (11.3%), *Entamoeba coli* (4.7%) and *Giardia lamblia* (3.6%) were found but *E. histolytica* was not detected. Malarial parasites and microfilariae were not demonstrated in the blood samples from 311 persons although three cases of benign tertian malaria have been recorded among refugees in the house. The significance of these parasitic infections in the health of Vietnamese refugees and the influence to the public health status of the inhabitants living around the refugee camp were discussed.

---

1 Okinawa Prefectural Institute of Public Health 2 Department of Parasitology, School of Medicine,  
University of the Ryukyus 3 Okinawa Prefectural Cooperation of Preventive Medicine

## PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PHOSPHODIESTERASE FROM THE VENOM OF *AGKISTRODON ACUTUS* (CHINA)

HISAYOSHI SUGIHARA, TOSHIAKI NIKAI, YUMIKO KOMORI, HISATO KATADA,  
NOBUHIRO MORI AND MITSUHIRO KISHIDA

Received May 25 1984/Accepted November 11 1984

**Abstract:** Phosphodiesterase was isolated from the lyophilized venom of *Agkistrodon acutus* from China using gel filtration on a Sephadex G-75 column, followed by chromatography on diethylaminoethyl (DEAE)-Sephadex A-50, carboxymethyl (CM)-Cellulose and Affi-Gel Blue affinity. Homogeneity was established by the formation of a single band in acrylamide gel electrophoresis, isoelectric focusing, sodium dodecyl sulfate (SDS) acrylamide gel electrophoresis and immunodiffusion. Phosphodiesterase activity was inhibited by ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), ethyleneglycol ( $\beta$ -aminoethyl) N, N, N', N'-tetraacetic acid (EGTA), o-phenanthroline, cysteine, thioglycolic acid, glutathione or p-chloromercuribenzoate (PCMB) but not by soybean trypsin inhibitor (SBTI), limabean trypsin inhibitor (LBTI), egg white trypsin inhibitor (EWTI), benzamidine or trasylol. The molecular weight of this enzyme was determined to be approximately 140,000 and the isoelectric point was found to be pH 7.4 by isoelectric focusing with carrier ampholyte. The phosphodiesterase activity of the final preparation was 2,190 units/mg. This protein was unstable to heat treatment and stable between pH 7 and 12. Its Michaelis constant ( $K_m$ ) and inhibition constant ( $K_i$ ) values for p-nitrophenyl thymidine-5'-phosphate or EDTA were found to be  $1.6 \times 10^{-3} M$  and  $5.8 \times 10^{-6} M$ , respectively. This protein did not contain any carbohydrates.

### INTRODUCTION

Snake venoms contain many enzymes that hydrolyze phosphomonoester, phosphodiester bonds, arginine ester, casein and adenosine triphosphate. Among venom phosphodiesterases, exonuclease is one of the most extensively studied enzymes and is used commonly for the degradation of nucleic acid. Substrates for this enzyme are DNA, RNA or any polynucleotide chains. Boman and Kaletta (1957) reported that the venom of *Crotalus adamanteus* has three different exonucleases whose activities are parallel to those of DNAase. Suzuki *et al.* (1960) showed that there were three different fractions of exonuclease from the venom of *Agkistrodon blomhoffii blomhoffii*. Philipps (1975) isolated a phosphodiesterase from *Crotalus* spp. venom. The molecular weight was 115,000. In this paper we describe the purification and characterization of the phosphodiesterase (Aa-p) from the venom of *Agkistrodon acutus*.

## MATERIALS AND METHODS

Dried venom of *Agkistrodon acutus* from China was purchased from Japan Snake Institute (Gunma). Sephadex G-75, DEAE-Sephadex A-50, ampholytes over the pH range 3.5-10 and Whatman CM-52 Cellulose were obtained from Pharmacia, Uppsala, Sweden and Whatman Biochemicals Ltd., Madistone, Kent, U. K., respectively. Affi-Gel Blue was purchased from BIO-RAD Laboratories. p-Nitrophenyl thymidine-5'-phosphate was obtained from Carbiochem-Behring Corporation, La Jolla, CA., U. S. A. Molecular-weight protein standard kits was purchased from Boehringer manheim GmbH. Deoxyribonucleic acid (Salmon Sperm) and Ribonucleic acid (Yeast) were obtained from Wako Chem. and Sigma, respectively. Monovalent antivenin (*Agkistrodon acutus*) was a product of Institute of Biologics, Shanghai. Other chemicals used were of analytical grade from commercial sources.

### *Assay for phosphodiesterase activity*

The assay is essentially that of Razzell and Khorana (1959) where the reaction velocity is determined by an increase in absorbancy at 400 nm resulting from the hydrolysis of p-nitrophenyl thymidine-5'-phosphate. The reaction mixture contained 0.01 ml of enzyme, 0.9 ml of 0.11 M Tris-HCl buffer, pH 8.9 containing 0.11 M NaCl, and 5 mM p-nitrophenyl thymidine-5'-phosphate in a total volume of 1.0 ml. This was incubated for 5 min at 37°C. One unit of phosphodiesterase activity was defined as the amount of enzyme which hydrolyzed 1  $\mu$  mole of substrate per min.

### *Determination of molecular weight*

The molecular weight was determined by polyacrylamide gel electrophoresis using the method of Weber and Osborn (1969). Protein standards were Hexamer (336,000), Pentamer (280,000), Tetramer (224,000), Trimer (168,000), Dimer (112,000) and Monomer (56,000). Sample and standards were treated with 5 per cent sodium dodecyl sulfate and reduced with 1.5 per cent mercaptoethanol for 3 min at 100°C and run on a polyacrylamide gel.

### *Isoelectric focusing*

Isoelectric focusing was performed on a LKB ampholine electrofocusing column of 100 ml using carrier ampholyte (pH 3.5-10). One milligram of Aa-p, previously dialyzed against a 1 per cent solution of glycine, was placed in the center of the column. Isoelectric focusing was performed for 72 hr at 4°C by applying 500V/ column. Two milliliter fractions were collected and the pH value of the fractions was measured at room temperature immediately after the experiment.

### *Amino acid composition*

Amino acid composition of the carboxyamide-methylated phosphodiesterase was determined with a Hitachi high speed automatic analyzer, Model 835. The

sample was hydrolyzed with constant boiling HCl at 110°C. A minimum of three analyses from 24, 48 and 72 hr hydrolysates were used.

#### *DNAase and RNAase*

Hydrolysis of DNA and RNA was determined by the method of Suzuki *et al.* (1960).

#### *Other methods*

Phosphomonoesterase, 5'-nucleotidase and ATPase activities were determined by the method of Suzuki and Iwanaga (1958) and Suzuki *et al.* (1960). Proteinase activity determination was carried out according to the method of Murata *et al.* (1963) using casein as substrate. TAME hydrolase activity was determined by the method of Roberts (1958). Clotting activity was determined according to the method of Sato *et al.* (1965).

## RESULTS AND DISCUSSION

#### *Isolation*

All fractionation steps were performed at 4°C. One g of crude venom was dissolved in 5 ml of 0.04 M Tris-HCl buffer containing 0.01 M NaCl (pH 7.2), and centrifuged at 7,000 rpm for 30 min. The supernatant was applied to a gel filtration column of Sephadex G-75 (2.5×99 cm) equilibrated with the same buffer (Figure 1-A). The fraction 1 and 2 were combined, and applied to a column of DEAE-Sephadex A-50 (1.9×45 cm) equilibrated with 0.04 M Tris-HCl buffer containing 0.01 M NaCl (pH 7.2). The column was developed with a linear gradient from 0.01 to 0.6 M NaCl in a total volume of 600 ml (Figure 1-B). The fraction 1 was dialyzed against 0.01 M acetate buffer containing 0.01 M NaCl (pH 6.0), and applied to a column of CM-Cellulose (1.9×45 cm) equilibrated with the same buffer. The column was developed with a linear gradient from 0.01 to 0.3 M NaCl in a total volume of 600 ml (Figure 1-C). For the final step to obtain phosphodiesterase, the phosphodiesterase fraction (indicated with screen) was dialyzed against 0.01 M Tris-HCl buffer containing 0.01 M NaCl (pH 8.5), and applied to a column of Affi-Gel Blue (1.2×13.6 cm) equilibrated with the same buffer. The

Table 1 Summary of purification of Aa-p

	Protein (mg)	Units/mg	Relative activity	Total activity	Yield (%)
Crude venom	1,000	13.3	1.0	13,300	100
Sephadex G-75	362.9	39.6	3.0	14,371	109
DEAE-Sephadex	42.5	312.5	23.5	13,281	101
CM-Cellulose	15.9	772.5	58.1	12,283	93
Affi-Gel Blue	1.2	2,190.0	164.7	2,628	20

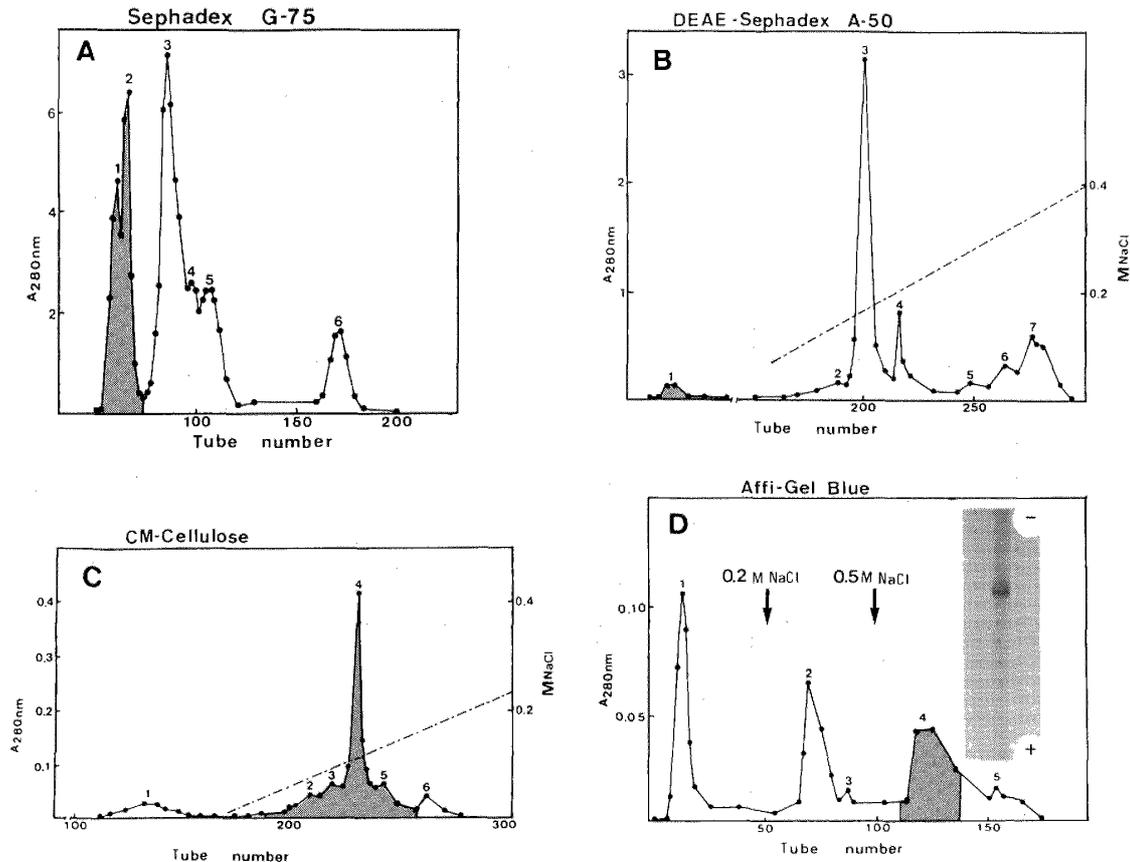


Figure 1 A: Sephadex G-75 gel filtration

*Agkistrodon acutus* venom was applied to a column ( $2.5 \times 94$  cm) of Sephadex G-75 equilibrated with 0.04 M Tris-HCl buffer (pH 7.2) containing 0.01 M NaCl and 3 ml fractions were collected at a flow rate of 13 ml/hr.

B: DEAE-Sephadex A-50 column chromatography

The phosphodiesterase fraction (peaks 1 and 2 in A) was applied to a column ( $2.0 \times 48$  cm) of DEAE-Sephadex A-50 equilibrated with 0.04 M Tris-HCl buffer (pH 7.2) containing 0.01 M. The column was eluted with a linear gradient from 0.01 M to 0.6 M NaCl (---) in 600 ml of the buffer. 3 ml fractions were collected. The flow rate was 12 ml/hr.

C: CM-Cellulose column chromatography

Peak 1 in B was applied to a column ( $1.5 \times 45$  cm) of CM-Cellulose equilibrated with 0.01 M acetate buffer (pH 6.0) containing 0.01 M NaCl. The column was eluted with a linear gradient from 0.01 M to 0.3 M NaCl (---) in 600 ml of the buffer. 3 ml fractions were collected. The flow rate was 12 ml/hr.

D: Affi-Gel Blue affinity column chromatography

The phosphodiesterase fraction (tube numbers 190-260 in C) was applied to a column ( $1.2 \times 13.6$  cm) of Affi-Gel Blue equilibrated with 0.01 M Tris-HCl buffer (pH 8.5) containing 0.05 M NaCl. The concentration of NaCl was raised as indicated 3 ml fractions were collected. The flow rate was 12 ml/hr.

column was developed with a stepwise elution of 0.05 M, 0.2 M and 0.5 M NaCl (Figure 1-D).

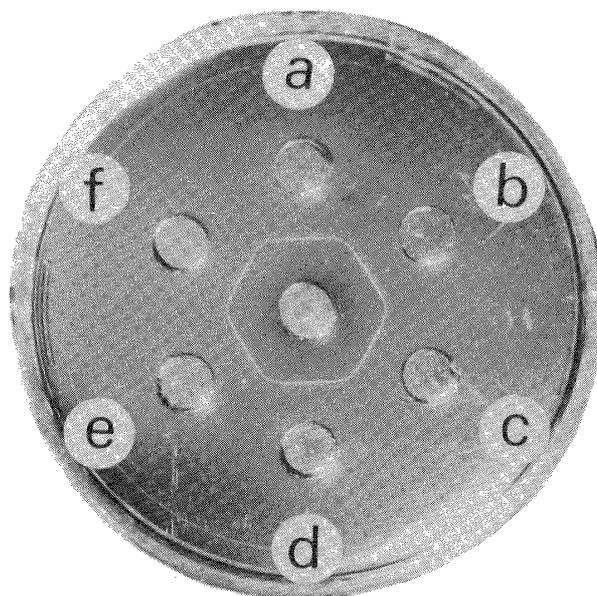


Figure 2 Ouchterlony immunodiffusion of Aa-p. Wells a, b, c, d, e and f contained  $10\ \mu\text{l}$  ( $1\ \text{mg/ml}$ ) of Aa-p from *Agkistrodon acutus*. Center well contained  $10\ \mu\text{l}$  of monovalent antivenin (*Agkistrodon acutus*).

The final preparation was subjected to disc electrophoresis on polyacrylamide gel and immunodiffusion. The sample gave a single band, suggesting purity of the preparation (Figures 1-D and 2). The final preparation was designated Aa-p. The extent of purification and the yield at each step are summarized in Table 1. The values are the mean of six independent determinations. Hundred and sixty-five fold purification was attained from the crude venom.

#### *Properties of Aa-p*

The molecular weight of the purified Aa-p was 140,000 by SDS gel electrophoresis and the isoelectric point was 7.40. Its amino acid composition is shown in Table 2. The material contained relatively large amounts of aspartic and glutamic acids, which together constituted nearly 24 per cent of the total amino acid residues. Phosphodiesterase, DNA and RNA hydrolysis activities were found in the purified Aa-p preparation while none of the phosphomonoesterase, 5'-nucleotidase, ATPase, TAME hydrolytic and casein hydrolytic activities present in the crude venom. Aa-p did not contain any carbohydrates. The effects of incubation with some reagents (5 min,  $37^\circ\text{C}$ ) were tested on the phosphodiesterase activity of Aa-p ( $0.04\ \mu\text{g}$  protein/ $10\ \mu\text{l}$ ). This activity was inhibited by EDTA, EGTA, cysteine, o-phenanthroline, PCMB, glutathione or thioglycolic acid, but not by SBTI, LBTI, EWTI, benzamidine or trasylol. Phosphodiesterase activity of this final preparation was completely lost upon heating at  $70^\circ\text{C}$  for 10 min (pH 8.5). The enzyme at a concentration  $0.04\ \mu\text{g}/10\ \mu\text{l}$  was incubated at  $4^\circ\text{C}$  for 12 hr at varying pH values and the enzymatic activity was then determined. The enzyme was stable in the pH range 7-12. The effects of some divalent ions on the phosphodiesterase activity

of Aa-p was also determined. The enzyme ( $0.04 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ ) and divalent ions in  $0.11 \text{ M}$  Tris-HCl buffer, pH 8.9 containing  $0.11 \text{ M}$  NaCl were incubated for 5 min at  $37^\circ\text{C}$ . The phosphodiesterase activity was activated with the presence of  $\text{Ca}^{++}$  ( $5 \text{ mM}$ ) or  $\text{Mg}^{++}$  ( $10 \text{ mM}$ ) but inhibited by  $\text{Cu}^{++}$  ( $10 \text{ mM}$ ) or  $\text{Mn}^{++}$  ( $25 \text{ mM}$ ). The Michaelis constant ( $K_m$ ) for p-nitrophenyl thymidine-5'-phosphate of Aa-p at pH 8.9 was  $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$ . The inhibition constants ( $K_i$ ) of PCMB ( $2 \text{ mM}$ ) and EDTA ( $0.08 \text{ mM}$ ) for Aa-p were determined by measuring the initial rates of hydrolysis of p-nitrophenyl thymidine-5'-phosphate at pH 8.9. The  $K_i$  values of PCMB and EDTA for Aa-p were  $1.4 \times 10^{-3} \text{ M}$  and  $5.8 \times 10^{-3} \text{ M}$ , respectively.

Table 2 Amino acid composition of Aa-p

Amino acid	24 hr	48 hr	72 hr	Cor <sup>a)</sup> value (nmol)	Normali- zation	Nearest integer
Asp	4.236	4.402	4.445	4.405	4.788	177
Thr	1.840	1.758	1.723	1.901	2.066	77
Ser	2.854	2.644	2.413	3.070	3.337	124
Glu	3.386	3.423	3.450	3.420	3.717	138
Gly	3.418	3.516	3.577	3.504	3.809	141
Ala	1.988	2.121	2.154	2.088	2.270	84
Val	1.356	—	1.389	1.373	1.492	55
Met	0.348	0.247	0.379	0.325	0.353	13
Ile	1.206	1.232	1.288	1.242	1.350	50
Leu	1.521	1.565	1.602	1.563	1.700	63
Tyr	1.190	1.298	1.155	1.210	1.315	49
Phe	0.991	0.995	1.044	1.010	1.098	41
Lys	1.463	1.539	1.509	1.504	1.635	61
His	0.458	0.470	0.458	0.458	0.498	19
Arg	0.930	—	0.903	0.920	1.000	37
Pro	1.612	—	1.613	1.613	1.753	65
Cys/2	1.870	2.087	1.704	1.889	2.053	76
Trp <sup>b)</sup>						20
Total						1,290

a) The hydrolysis values for threonine, serine, glycine and leucine were extrapolated to time zero.

b) Tryptophan content was determined by the spectroscopic method of Edelhoch (1967).

Venom phosphodiesterase has been isolated by many investigators and the enzyme has been widely utilized as a tool for structural and sequence studies of nucleic acids (Ho and Gilham, 1973). Phosphodiesterase are present in the venoms of Crotalidae, Viperidae, Elapidae, Hydrophiidae and Coluburidae (Kocholaty *et al.*, 1971; Mebs, 1970; Setoguchi *et al.*, 1968; Tu and Toom, 1971), but show little or no phosphodiesterase activity in the venom of Bungarus family. Frischauf and Eckstein (1973) reported the purification of phosphodiesterase from the venom of

*Bothrops atrox* and characterized it as a basic protein with an estimated molecular weight of 130,000. Philipps (1975) purified a phosphodiesterase from *Crotalus adamanteus* venom. This enzyme has molecular weight of 115,000 and the isoelectric point was pH 9.0. Our value of 140,000 is in good agreement with the values reported for phosphodiesterase from other venom sources and these preparations were glycoprotein, although Aa-p did not contain any carbohydrates. These enzymes from *Agkistrodon acutus* and other venom sources hydrolyzed p-nitrophenyl thymidine-5'-phosphate and were strongly inhibited by EDTA or o-phenanthroline, suggesting that metal is essential for enzyme activity. Moreover, this activity is also inhibited by cysteine suggesting that the s-s bond is essential for activity.

#### REFERENCES

- 1) Boman, H. G. and Kaletta, U. (1975): Chromatography of rattle-snake venom a separation of three phosphodiesterases, *Biochem. Biophys. Acta*, 24, 619
- 2) Edelhoch, H. (1967); Spectroscopic determination of tryptophan and tyrosine in proteins, *Biochemistry*, 6, 1948
- 3) Frischauf, A-M. and Eckstein, F. (1973): Purification of a phosphodiesterase from *Bothrops atrox* venom by affinity chromatography, *Eur. J. Biochem.*, 32, 479
- 4) Ho, N. W. Y. and Gilham, P. T. (1973): The analysis of polydeoxyribonucleotides by digestion with phosphatase and phosphodiesterases, *Biochem. Biophys. Acta*, 308, 53
- 5) Kocholaty, W. F., Bowles-Ledford, E., Goety-Daly, J. and Billings, T. A. (1971): Toxicity and some enzymic properties and activities in the venoms of Crotalidae, Elapidae and Viperidae, *Toxicon*, 9(2), 131
- 6) Mebs, D. (1970): Comparative study of enzyme activities in snake venoms, *Int. J. Biochem.*, 1 (3), 335
- 7) Murata, Y., Satake, M. and Suzuki, T. (1963): Studies on snake venom, distribution of proteinase activities among Japanese and Formosan snake venoms, *J. Biochem. Tokyo*, 53, 431
- 8) Philipps, G. R. (1975): Purification and characterization of phosphodiesterase from *Crotalus* venom, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 356, 1085
- 9) Razell, W. E. and Khorana, H. G. (1959): Studies on polynucleotidase III. Enzymatic degradation, specificity and properties of snake venom phosphodiesterase, *J. Biol. Chem.*, 234, 2105
- 10) Roberts, P. S. (1958): Measurement of the rate of plasmin action on synthetic substrates, *J. Biol. Chem.*, 232, 285
- 11) Sato, T., Iwanaga, S., Mizushima, Y. and Suzuki, T. (1965): Studies on snake venom XV. Separation of arginine ester hydrolase of *Agkistrodon halys blomhoffii* venom into three enzymatic entities; "bradykinin releasing", "clotting" and "permeability increasing", *J. Biochem. Tokyo*, 57, 380
- 12) Setoguchi, Y., Morisawa, S. and Obo, F. (1968): Sea snake venom III. Acid and alkaline phosphatases (phosphodiesterase, phosphomonoesterase, 5'-nucleotidase and ATPase) in sea snake (*Laticauda semifasciata*) venom, *Acta Med. Univ. Kagoshima*, 10 (1), 53
- 13) Suzuki, T. and Iwanaga, S. (1958): Studies on snake venom II. Some observations on the alkaline phosphatases of Japanese and Formosan snake venoms, *J. Pharm. Soc. Japan*, 788, 354
- 14) Suzuki T., Iwanaga, S. and Satake, M. (1960): Snake venom IV. Fractionation of three phosphodiesterases from venom of mamushi (*Agkistrodon halys blomhoffii*), *J. Pharm. Soc. Japan*, 80, 857
- 15) Tu, A. T. and Toom, P. M. (1971): Isolation and characterization of the toxic component of

*Enhydrina schistosa* (common sea snake) venom, J. Biol. Chem., 246, 1012

- 16) Weber, K. and Osborne, M. (1969): The reliability of molecular weight determinations by sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, J. Biol. Chem., 244, 4406

### 中国産ヒヤッポダ毒よりホスホジエステラーゼの精製とその性質

杉原 久義, 二改 俊章, 小森由美子  
片田妃佐都, 森 信博, 岸田 充弘

凍結乾燥中国産ヒヤッポダ毒より, ゲル濾過, イオン交換及びアフィニティークロマトグラフィーを用い, ホスホジエステラーゼを単離した。そしてそれを, ディスク電気泳動, 等電点電気泳動, SDS 電気泳動及び免疫拡散法により, 均一な標品であることを確認した。本酵素は, 易熱性であるが pH 7-12の間では安定であった。糖を含まないタンパクで, 分子量は約14万, 等電点は pH 7.4と測定された。精製標品のホスホジエステラーゼ活性は, 2,190 units/mg で, その活性は, EDTA, EGTA, o-フェナンスロリン, システイン, チオグリコール酸, グルタチオン, PCMB によって阻害されたが, 各種トリプシンインヒビター, ベンズアミジン, トラジロールでは阻害されなかった。また, p-ニトロフェニル チミジン-5'-ホスフェイトに対する  $K_m$  値は,  $1.6 \times 10^{-3} M$ , EDTA に対する  $K_i$  値は,  $5.8 \times 10^{-6} M$  と, それぞれ算出された。

## 日本熱帯医学会九州支部第8回大会講演要旨

会 期: 昭和59年1月21日(土), 22日(日)

会 場: 宮崎県医師会館

会 長: 宮崎医科大学寄生虫学教室 石井 明

### 特 別 講 演

- I Primary Health Care と熱帯医学  
橋本 道夫 (筑波大・医・社会医学)
- II 東南アジアにおけるアルボウイルス感染症  
五十嵐 章  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

### 海外研究活動の紹介, 報告

- 1 ケニア国伝染病研究対策プロジェクトについて  
内藤 達郎  
(長崎大・熱帯医研・病原細菌)
- 2 文部省海外学術調査「南米型及び中米型オンコセルカ症伝搬機構の比較研究」について  
多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)
- 3 フィリピン熱帯医学研究所の活動を中心として  
小張 一峰 (琉球大・医・一内科)
- 4 文部省海外学術調査「形態・生態学, 遺伝・生化学から見た東南アジアにおける蚊科の系統分類学的研究」について  
宮城 一郎 (琉球大・医・保健)
- 5 中国ハルビン医科大学との共同研究および協力について  
新宮 正久 (久留米大・医・微生物)
- 6 ガーナ共和国における野口記念医学研究所の活動  
本多 憲児 (福島県立医大・外科)
- 7 国際保健医療協力について  
中澤 幸一 (国際協力事業団医療協力部)

### 一 般 演 題

- 1 興味ある胸部X線写真経過を示した肺犬糸状虫症の1例  
明石 光伸 (大分大・保健管理センター)  
田代 隆良 (大分医大・二内科)  
坪井 峯男 (大分県農管理センター)  
荒木 国興 (国立公衆衛生院・寄生虫)
- 2 人結膜に寄生した東洋眼虫の症例  
柴田 博 (県立宮崎病院・眼科)  
澤田 惇 (宮崎医大・眼科)  
石井 明 (宮崎医大・寄生虫)
- 3 大分県における東洋眼虫症の発生状況  
中島 創 (大分医大・学5)  
高岡 宏行 (大分医大・医動物)  
坂本 英世 (大分医大・眼科)
- 4 糞線虫症ならびにサイアベンダゾールによる治療について  
尾辻 義人, 原田 隆二, 橋本 修治  
(鹿児島大・医・二内科)
- 5 最近経験したマラリアの3例  
松岡 均, 楠根 英司, 前田 宏一,  
浅井 順子, 横田 勉, 橘 宣祥,  
津田 和矩 (宮崎医大・二内科)  
石井 明 (宮崎医大・寄生虫)
- 6 熱帯地住民の発汗機能  
大渡 伸, 藤原真理子, 岩元 純,  
Hw. Soeliadi, 范 育仁, 土屋 勝彦,  
小坂 光男 (長崎大・熱帯医研・疫学)
- 7 西サモアにおけるフィラリア症伝播の疫学一部落の環境と媒介蚊の分布, 並びに仔虫保有率について—  
木村 英作 (長崎大・熱帯医研・寄生虫)

- W. A. Samarawickrema  
(WHO, マレーシア)
- L. Penaia (西サモア国厚生省)
- 8 中南米産オンコセルカ症伝搬ブユ数種の蔵卵数について  
馬場 稔, 高岡 宏行  
(大分医大・医動物)
- 鈴木 博  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 野田 伸一 (鹿児島大・医・医動物)
- 多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)
- J. O. Ochoa A. (グアテマラ国マラリア研)
- 9 ベネズエラ国アマゾナス州のオンコセルカ症の伝搬機構の研究, その問題点  
高岡 宏行 (大分医大・医動物)
- 鈴木 博  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 野田 伸一 (鹿児島大・医・医動物)
- 多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)
- L. Yarzabal, M. G. Basáñez  
(ベネズエラ国立皮膚科研・寄生虫免疫)
- 10 ベネズエラ国オンコセルカ症対策プロジェクトの経験から  
吉村 健清 (産業医大・公衆衛生)
- 11 米国占領下における沖縄の官営医療制度(1945-1951)について  
照屋 寛善, 平良 一彦, 宮城 重二  
(琉球大・医・保健管理)
- 12 ジョン・ダンの「瞑想」をめぐって—熱帯医学に投げかけるもの—  
多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)
- 13 タイにおける Dengue 出血熱患者および脳炎患者血清の免疫酵素測定法  
分藤 桂子, C. Chanyasanha,  
C. A. Torres, 五十嵐 章  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 14 ゲタウイルス感染 BHK 21 細胞に見られる線維様構造  
R. R. Matias, 五十嵐 章  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 15 狂犬病ウイルス赤血球凝集抑制反応の改良とその応用  
万年 和明, 三舟求真  
(大分医大・微生物)
- 16 Kaposi 肉腫の組織像について  
板倉 英世, 鳥山 寛  
(長崎大・熱帯医研・病理)
- 17 実験的マウスパベシア症に関する病態生理学的研究  
河野 宏, 牧村 進, 薄井 萬平  
(宮崎大・農・家畜内科)
- 18 実験室内での大平肺吸虫サイクルの維持  
波部 重久 (福岡大・医・寄生虫)
- 19 N-2-fluorenylacetamide 投与による肝吸虫感染ハムスター肝の病理学的変化について(第2報)  
飯田 広樹, 塘 普  
(久留米大・医・寄生虫)
- 20 日本住血吸虫卵の免疫組織化学, 特に虫卵内 IgG 様物質の存在について  
平田 瑞城, 塘 普  
(久留米大・医・寄生虫)
- 21 尿中のビルハルツ住血吸虫卵数の表現法について—単位尿量当たりの虫卵数と単位時間当たりの虫卵数の比較—  
嶋田 雅暁, 佐藤 克之, 青木 克己  
(長崎大・熱帯医研・寄生虫)
- 平田 瑞城 (久留米大・医・寄生虫)
- 22 単一クローン抗体による日本住血吸虫虫卵抗原の解析について  
石井 明, 大橋 真, 八谷 敏子  
(宮崎医大・寄生虫)
- G. F. Mitchell (ウォルター医学研)

## 特別講演

### I Primary Health Care と熱帯医学

橋本 道夫 (筑波大・医・社会医学)

Primary Health Care と熱帯医学の問題を JICA 北スマトラ地域保健対策計画の事例に基づいて考えてみたい。赤道直下のスマトラ島の山中にあるトバ湖から流れ出るアサハン河の2つの滝を使って水力発電を行い、その電力を約 120 km 先のマラッカ海峡の沿岸に立地したアルミニウム電解精錬工場に送ってアルミニウムを製造する工業開発が、インドネシア政府の強い要請に基づいて日本との間の2国間協力事業として進められている。

この開発計画に 8,200人余のインドネシア人と日本人が現地に移住して、熱帯の農山漁村で建設や生産に従事することによって生じてくる地域社会の保健衛生を向上するために始められたのがこの事業である。現地は北スマトラ州都メダンから約 120 km 離れた所でマラリアの流行や、消化器系伝染病の大流行もみられる地域であり、水は豊富であるが安全な飲料水は極く限られた例外を除いては得られず、雨期には洪水が、乾期になると浅井戸は干上るという所で、事業地区の3保健所には病床が併設されており、アサハン県都キサランの基幹病院には 120 km もあり、その外はゴム園従業員の為の病院があるのみであった。政府ベースの協力より先に日本の企業群とインドネシア政府との間で民間ベースの基本合意が締結されており、その中に既に環境対策が記されていた。合併会社の INALUM が先ず実施したのは、薬剤散布によるマラリア対策と 250m の深井戸による上水道建設及び有床診療所を開設して開発工事を進めることであった。インドネシア側はジャカルタの保健省が中心となり、北スマトラ州の衛生局長がプロジェクト責任者となって、メダンの管理衛生試験所とアサハン県衛生部及び病院と3保健所が本来の地域保健対策を実施することに日本側が協力する体制である。JICA の専門家は公衆衛生

の医師のチーム・リーダーのもとにマラリア、消化器系伝染病及び寄生虫、結核、水と環境衛生の専門家がメダンに駐在して、ジープで現地に行き、現在ではインドラプラ保健所の試験検査・研修施設の宿舍を基地として現地で技術協力活動を行っている。技術協力は先ず北スマトラ州全体に大規模に流行したコレラ（当初は下痢・嘔吐疾患とされていた）防疫における細菌検査と疫学調査に対する協力が始まり、マラリア対策がこれに次いだ。マラリア対策では基礎データが不足していたため JICA の専門家による形態学、生態学、マラリア病学の問題の第一歩から積み上げの努力を要した。

コレラの防疫経験から安全な農村給水の確保の必要性が痛感され、農村深井戸建設パイロット計画が始められた。寄生虫対策も併行して進められた。結核の専門家の着任を得て北スマトラ州の長期計画が策定され試験検査や、患者発見や管理に対する協力が進んだ。防疫、水質検査、結核対策などの技術体制整理としてメダンの管区衛生試験所の設備整備が進められるのと併行してインドラプラ保健所に試験検査と研修施設が建設された。インドネシア側が最も当初から協力を求めたものは保健所の設備整備であり、Primary Health Care のための Health Care Delivery System の整備が最も基本的な計画である。自動車、モーターバイクによる機動力の増強やワクチン保存のための灯油冷蔵庫、顕微鏡、発電機、事務用具等が整備された。インドラプラの保健所には無線電話も備付けられた。インドラプラ保健所の病床はあまりにもひどく、又所内の井戸も浅く不良の水質のため病床を更新し、揚水ポンプ付深井戸が建設された。1978年4月から5カ年計画の技術協力事業は当初の一年は事業計画と翌年度の予算作成のため空白となって、2年目から正式に動き出したが、当初はまとまりがつかず、北スマトラ州の

自発性も弱くどうなることかと心配されたが、チームリーダーや専門家の努力により1981年末頃からようやく軌道に乗り始めた。5年目の JICA の評価の結果次のことが判明した。技術移転効果としてコレラや結核の細菌検査面で明確な進歩がみられた。基盤整備効果として保健所、管区衛生試験所、現地の試験検査、研修施設の設備整備が進み、しかもそれがインドネシア側の組織と職員によってよく活用されていた。特に現地の試験検査と研修施設をいかに運営管理するかという点では非常に調整の努力を払って完全に動かしている。

農村深井戸のパイロットプロジェクトとしての5つの井戸は2つは大成功、2つは使用されているが水量が減少し改善の要があり、1つはポンプが破れて使われず失敗であった。インセンティブ効果では沿岸部落のマラリア対策として従来の DDT 屋内残留噴霧は効果が認められないので *Ann. sundaicus* の生態特性に応じた防除対策が必要だという JICA チームの調査研究結果を本省側でやっと受入れ共同研究が始まった。又保健所の利用が活性化した。

## II 東南アジアにおけるアルボウイルス感染症

五十嵐 章 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)

アルボウイルスは、その宿主である脊椎動物の間を蚊やダニ等の吸血性節足動物により媒介されるという伝播様式に基づいて一群とされたウイルスであり、近代ウイルス学的分類に基づく多くの科、属のウイルスが含まれている。中でもトガウイルス科フラビウイルス属には歴史的に有名な黄熱のようにヒトに対して重篤な感染症を惹起する病原体が含まれている。東南アジアでは共にフラビウイルスに属するデングウイルスと日本脳炎ウイルスによる感染症が公衆衛生的に大きな問題となっており、本講演ではこの課題に集中して述べた。

デングウイルスによる感染症はネッタイシマカで媒介され、古くからデング熱として知られている。約1週間の潜伏期の後に悪感戦慄を伴う急激な発熱、筋肉関節痛、頭痛殊に眼の奥の痛みが2-3日続いた後やや解熱するが再び高熱を発生(二峰性発熱)、四肢等に特有の発疹を生ずる。約1週間で回復し死亡する事は極めて稀である。

1953年フィリピンのマニラで小児の間に急激な発熱が数日続いた後、血圧、脈圧の低下というショック症状と出血傾向を呈し高率に死亡する疾患が流行した。患者の末梢血からデングウイルスが分離されて以来デング出血熱(DHF)と呼ばれるようになったこの疾患は、タイ、インドネシア、マレーシア、ベトナム、ビルマ等、東南アジア各

地の大都市で流行し、都市周辺へも拡大して行った。血小板減少および出血傾向が認められた場合、輸液等の対ショック療法を行う事によって入院 DHF 患者の死亡率は5%以下に減少したものの、患者総数が年間数万名と 龐大であるため、DHF は依然として東南アジアにおける最も重要なウイルス感染症である。

DHF の発病機構には大別して2つの考えがある。第一はウイルスの毒力に原因を求め、第二は宿主の免疫状態に原因を求めるものである。第一の考えは明快ではあるが、現在のところ、重症の DHF 患者から分離されたウイルスが軽症の発熱患者から分離されたウイルスと差のある事を明確に証明した報告はない。第二の考えはデングウイルスには互に共通抗原を有するが交差免疫のない4つの血清型が存在する事、DHF 患者の多くは二次感染の血清反応を示し補体第3成分の減少を伴う事、ヒト末梢単核球でのデングウイルス増殖が異型デングウイルスに対する抗体で促進される事等の事実に基づいている。然し流行地でデングウイルスの二次感染を受ける小児の数は DHF 患者数よりはるかに多い事、軽症の発熱患者(FUO)にも二次感染の血清反応を示す者が存在する事、一次感染でも DHF になる事を説明する事が出来ない。

演者等は1981-82年インドネシアのジャカルタ

でデングウイルスの分離を行った際、外来 FUO 患者末梢血から極めて容易にデングウイルスを分離できる事を経験した。この事実は FUO 患者が媒介蚊にウイルスを供給する増幅動物として作用している事を示唆するものであり、DHF の流行を重症の入院患者だけを見ていたのではその実態を把握できない事を示すと云えよう。二次感染説との関連からもデングワクチンは未だ開発段階にあり、DHF に関しては、基礎応用両面において研究すべき課題が山積している。

日本脳炎 (JE) は日本以外にも、東アジアから東南アジア、西はインド、ネパール、スリランカに至る地域に存在する。日本の JE 患者数は1966年の流行後激減し、過去10年は年間患者も100名以下という低流行状態にある。これに対して日本以外のアジア各地ではしばしば JE と思われる脳炎が流行し、高い死亡率と精神神経障害を伴う後遺症の点で公衆衛生上の大問題となっている。防疫対策面では日本で開発された中山株ワクチンが

日本以外でも有効か否かが問題であり、これに関連してアジア各地での流行株の異同を解明することが必要である。この研究は又、日本での JE ウイルスの越冬が土着か持込みかという積年の課題に新しい見地からの解答を与える手がかりにもなる。熱帯地では年間を通じてコガタアカイエカその他の JE 媒介蚊の活動が可能であり、このような自然環境下での JE ウイルスの伝播様相は日本で今日まで得られた知見とは異なる疫学的特徴をもっていると考えられる。

タイ国北部チェンマイ地区ではデングウイルスの感染と JE ウイルスの感染が同時期、同年齢層に流行する事から、両者のウイルス学的鑑別、血清疫学、ウイルスの生態学的特徴、山地民族の JE ウイルス感染機構等、興味ある研究課題が存在する。これらについて1982年演者等が文部省科学研究費の援助により実施した海外学術調査に言及し、今後の我々の研究方針についても述べた。

## 海外研究活動の紹介, 報告

### 1 ケニア国伝染病研究対策プロジェクトについて

内藤 達郎

(長崎大・熱帯医研・病原細菌)

1976年8月ケニア政府より技術協力の要請, 約1年後の事前調査, さらに1年後の計画策定の後, 1979年3月9日に討議議事録への署名で協力期間5年の当 JICA プロジェクトは発足した。その目的は下痢症についてウイルス, 細菌, 原虫・寄生虫の3分野から基礎的調査研究を行ってその対策に資することと, 使用しているウイルスワクチンの効果判定とそれに基づく対策であった。しかし後者については諸般の事情から1981年10月その実施を見送ることを決定, 1981年5月以降寄生虫分野では住血吸虫症を対象としての調査研究が加えられた。1979年8月末チームリーダー, 11月調整員が赴任し関係者との打合せを進め, 翌年3, 4, 6月にウイルス, 原虫, 細菌の専門家も赴任したが, 初年度供与機材の到着が7月となり, それらを利用しての活動開始には更に1-2カ月を要した。その後交代または増員として協力を得た専門家はリーダー3名, ウイルス6名, 細菌7名, 寄生虫6名である。ケニア側組織の関係から各分野への協力機関はそれぞれ異なり, 特にウイルス分野の研究室は離れて設営され相互の連絡に不便であったが, その後やや改善され, 1982年2月着工・供与した研究棟を全面的に使用できるに至って各分野の交流, 機器の能率的利用が可能となり活動能率が向上した。ケニア側カウンターパートは当初原虫分野を除いては平常業務を持った Technologist が配置され不十分であったが, 1981年からは理学部出身で採用され Scientist を志向する者が交代で各分野へ配属されやや好転, 翌年には女性医師1名が微生物志向として配置され, また前記 Scientist 志向者または日本で研修を終えた者の配属の傾向がみられてきた。寄生虫分野では投薬にまで至るのでフォローアップが行われるであ

ろうが, 本プロジェクトは1984年3月で終了と決定された。1982年末より無償供与で着工されたケニア中央医療研究所の完成後に行われる技術協力の中で本プロジェクトの成果が活かされることを切望している。

### 2 文部省海外学術調査「南米型及び中米型オンコセルカ症伝搬機構の比較研究」について

多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)

グアテマラとベネズエラに浸淫するオンコセルカ症の背景を為す「寄生虫-伝搬者-終宿主」関係を多面的にさぐり伝搬要因を比較する目的でこの班は1982年9-12月の期間, 調査活動した。参加人員は多田, 鈴木(長崎大・熱研), 高岡(大分医大), 坂本(長崎大・熱研), 野田(鹿児島大・医), 三森・是永(熊本大・医), ヤルサバル(ベネズエラ・国立皮膚科学研)である。従来, 中米型本症はアフリカ型と比べると臨床・伝搬機構にかなりの差があると云われている。しかし南米型はアフリカ型に類似し, 奴隷貿易の時代に輸入されたと考えられている。このような状況で, 今回, 中米型をベースラインに置いてベネズエラ国の本症(北部型とアマゾナス州型の2型)を伝搬ブユ, 宿主ヒト, 自然環境などの観点から追求することを目的とした。アマゾナス州では伝搬ブユ *S. pinto* の特性を実験的に明らかにし, 刺咬特性, ヤノママ族の罹患状況を調査し, その臨床像における中米型との類似性などの知見を得た。北部では伝搬ブユ *S. metallicum* の感染実験を行い, ブユ相の調査をした。グアテマラでは従来, 伝搬に関与していないとされていた *S. haematopotum* が実験的に良好な感受性を示すことを証明した。免疫診断において濾紙採血標本を用いる ELISA を確立した。更に抗フィラリア剤 DEC の殺仔虫機構について病理組織学的研究に新知見を得た。いわゆるマソッテイ反応の強さが血中 IgG, 好酸球値に関連することも見出された。

1982年度のサーベイでは表面的観察に終わったことも多いので、第2回(1984)研究行では、感染者移送による両国伝搬ブユの交差 O.v. 感受性・伝搬ブユの細胞遺伝学的分析を柱にした。

この会の慣例に従い各地の風物(ヤノママ族の世界など)をスライド供覧した。

### 3 フィリピン熱帯医学研究所の活動を中心として

小張 一峰 (琉球大・医・一内科)

フィリピンに熱帯医学研究所を設立することは、1970年当時の Garcia 保健大臣来日の際に提案されて以来長い間の懸案事項であったが、その後両国間の話し合いが進捗して、やっと設立完成したのが1981年3月国際協力事業団を介してのことだった。マニラの郊外の Alabang にある保健省の、日本の予研に該当する Bureau of Research and Laboratories の敷地内に建てられた2階建 6,113 m<sup>2</sup> 床面積の研究所で、50床の患者収容施設と外来診療の施設も附随している。

研究所が目的として掲げているのは、1. フィリピンおよび東南アジアにおける熱帯病の研究ならびに防遏方法の開発、2. 技術者および研究者の育成、3. 研究目的に対応する医療の供給の3項目である。

わが国は、無償供与による建物設立後も国際協力事業団のプロジェクトの1つとして専門家の派遣による医療協力が継続されている。そのチームリーダーには、研究所設立に際しても日本側の代表的役割を果たされた元東邦大学医学部公衆衛生学教授の金子義徳氏が選ばれており、その外電子顕微鏡操作のベテラン技師と、ウイルス検査に精通した検査技師、小児科臨床医が派遣されている。

現在までのところ研究主題は、1. 急性呼吸器感染症、2. 下痢症、3. 住血吸虫症 が3本の柱になっており、加えて電子顕微鏡操作のための講習会あるいは各種のウイルス検査について、日本の専門家による指導が行われている。フィリピンにおける死因の第1は呼吸器疾患、第2は下痢症であり、またレイテ島を中心として住血吸虫症は未だに淫浸をきわめている現状から、この3種目

が主たる研究目標に選ばれたのは当然であろう。

呼吸器感染症、下痢症に関しては、病原検査が極めて不十分であったが、わが国からの専門家によって、下痢症の重要な病原としてはじめて Rota virus の検出が証明された。

外来ならびに入院患者については、感染症が主体であるが、現在までのところ臨床医が臨床研究の対象とする段階までには至っていないが、今後日本からの専門家の指導によっては、感染症研究への進路が開かれる可能性を十分備えた研究施設であり、フィリピン政府も他に類例のないような力の入れようである。しかし、運営のための予算は決して十分ではなく、わが国あるいは WHO などの援助と協力が欠かせないことも実感される。

### 4 文部省海外学術調査「形態・生態学、遺伝・生化学から見た東南アジアにおける蚊科の系統分類学的研究」について

宮城 一郎 (琉球大・医・保健)

形態のみならず生態、遺伝、生化学などあらゆる方法より得た資料をもとに東南アジアの蚊を系統的に分類する目的で1981年より海外学術調査(文部省)が進められている。このプロジェクトは演者が研究代表者となり、他に各分野の専門家によって構成されている。遺伝、生化学分類:塚本増久、堀尾政博(産業医大)、生態学:茂木幹義、岡沢孝雄(佐賀医大)、形態分類学:当間孝子(琉球大・医)。第1次調査は1981年10月から約3カ月、フィリピンのパラワン島、北ルソン、ミンダナオ島で同国厚生省マラリア防圧局(リベラ局長)の協力の下に実施。第2次調査は1983年10月より3カ月間、タイ国のチェンマイ、チャンタブリ両地域でチラサック教授(チェンマイ大学)、スパット教授(マヒドール大学)、ブンルワン博士(国立医学研究所)の協力で実施された。第3次調査は1985年マレーシアで実施の計画である。目下、1, 2次調査で得たデータを整理、分析中であるが次のような結果が得られている。

形態学的分類:フィリピンでは約400水域から採集した幼虫、蛹を羽化させ3,000個体の標本を得た。これらは130種に同定、8新種、5新記録、

3 シノニムが含まれている。タイでも同様 400 水域より得た約 3,500 個体の羽化成虫標本は 93 種に同定された。これらの中には形態、生態、分布上興味深い種が多数含まれている。

生態学的調査：各地で水田の主要蚊の生存率と天敵の役割について調査、ネッタイシマカの生息環境と成虫の体色との関係などを調査し、興味ある 2, 3 の知見を得た。

遺伝・生化学的分類：両国でともに約 80 種の幼虫について現地で電気泳動を行い、エステラーゼ、アミノペプチダーゼ、乳酸脱水素酵素等の活性バンドを比較した。その結果形態分類の結果ともよく一致し、蚊科の分類学的研究に有効であることがわかった。

### 5 中国ハルビン医科大学との共同研究および協力について

新宮 正久 (久留米大・医・微生物)

海外研究活動及び国際医学協力のあり方については色々な方法があるが、演者は 1979 年より中国ハルビン医科大学と久留米大学との間で行われて来た共同研究及び医学協力について紹介した。

久留米大学はすでに 11 名の中国研修医と 2 チームの医学視察団を受け入れ、おのおのの研修医は 3 カ月間と短期間ではあったが、ウイルス学、環境衛生学 (振動病)、第三内科 (循環器内科)、第二外科 (心臓外科) の各講座で主任クラスの人々を客員教授、客員助教授、客員講師の身分で研修を行った。一方、久留米大学より毎年 3-5 名の医学講演団を組織してハルビン医科大学に送り、医学生及び卒業後医学教育のための特別講演会を行ってきた。この特別講演会のスケジュールはハードなもので一日数回の講演を行うことも少なくない。

因に演者は中国で生まれ、16 年間中国大陸で生活し、中国語の日常会話は多少理解できる。1980 年より 4 年間毎年 3-4 週間の日程でハルビン医科大学を訪れ、中国のウイルス性出血熱の研究及び克山病の研究に協力し、一方、我々の教室の主なる研究である偶蹄類由来エンテロウイルスによる抗癌療法の研究に協力してもらっている。1981 年 8 月 10 日ハルビン医科大学名誉教授の称号を与え

られ、現在ハルビン医科大学の微生物学教室と疫学教室にはそれぞれ新宮教授研究室なる名札のかかった部屋がある。ハルビン医科大学と久留米大学との友好関係は共に学外からの資金援助をうけておらず、共に大学内で出来る範囲で行われており今後も長く続くものと考えている。

医学協力や共同研究には一方的に援助あるいは協力では持続しないというのが演者の持論であって両国関係者が対等の立場で協力し合うことが大切であろうと考えている。

### 6 ガーナ共和国における野口記念医学研究所の活動

本多 憲児 (福島県立医大・外科)

福島医大の学生に誇りを持たせるために海外に医師を派遣したらと考えていた頃、日本政府を通じガーナ医科大学の方から教授派遣の要請があるが、野口博士の出身地である福島医大にどうかという話があり (1967 年 10 月)、1968 年 5 月、福島医大教授会において「ガーナ医療協力」に関する調査団が結成され、1969 年から業務が開始され、現在までに 4 プロジェクトチームを派遣している。各プロジェクトチームは 4 年単位とし、それぞれの専門家は家族同伴で赴任し、期間は 2 年間とした。各プロジェクトチームのテーマは次の通りである。第 1 次プロジェクトチームはウイルス学の研究で、電子顕微鏡の大活躍があった。第 2 次プロジェクトチームは栄養と感染症で、眼科学 (オンコセルカ症) と栄養学の研究を行った。第 3 次チームは病態生理学・免疫学で、第 4 次チームは下痢症と低栄養であった。

ガーナ医療協力に際しては、脱シュバイツァー方式 (個人の力でなく、集団の力で行う方式) で、福島医大方式とでも云うべき全学の力を結集して開始した。まずプロジェクトを学内委員会で討議し、ついで教授会で審議決定の上、実施するという全学的行事で行ってきたが、1978 年 7 月からは全国規模の国内委員会を発足させ、同系統の専門家が討議し、多数の大学より、そのプロジェクトに適した人を選ぶ学際的行事として進み、その方面の専門家が基礎・臨床の両方面から派遣される

ことになり、相手国の要請にも非常によく合致し、よい結果を生んだものと思う。

この様に技術協力を積み重ね、カウンターパートも十分に養成されてきて、最後の仕上げとして、供与機材（約2億円分）の散逸を防ぐと同時に、十分活用できる様な研究所建設の要望が両国から起こり、西アフリカ医学のセンターとして、1979年、アクラに野口英世記念基礎医学研究所（20億円、総建坪 22,000m<sup>2</sup>）が完成し、第4次チームはここを拠点として医療協力を従事し、以来4年間、研究成果を住民にフィードバックすべく、フィールドワークも行った。この1つとして麻疹の予防を行った。ガーナに於ては以前から麻疹の死亡率が高かったので、麻疹の流行があり死亡率が高い所をモデル地区として、3歳以下の小児に麻疹ワクチンを接種後、臨床反応、抗体測定を行った。その結果、低栄養児でも副反応は軽く、抗体上昇率は非常に良好であるが、抗体価は低く、麻疹発生はおさえられ、ワクチン接種後の効果は著明であった。

開発途上国との医療協力は息の長い仕事であり、研究者の忍耐と努力により、はじめてその効果をあげうるものと思う。海外経済協力、殊に医療協力は、世界に比べると日本ではまだ10歳程度であり、常に Try and error の連続である。然し、たとえ失敗しても、関係者はみんなで暖い目で見守り、その成功を得るよう協力することが必要であると思う。

## 7 国際保健医療協力について

中澤 幸一

(国際協力事業団医療協力部)

日本の国際保健医療協力の分野は、国際保健医療関係機関への寄与 (multilateral)、政府間の経済・技術協力事業 (bilateral)、民間活動等多岐にわたっている。

中でもわが国の ODA 予算による、いわゆる開発途上国 (developing countries) に対する保健医療協力は、二国間協力 (bilateral cooperation) を基本として、相手国の「人造り」に協力するという形のものとして、技術協力事業 (technical co-

operation) が主体となっており、この活動の中心を国際協力事業団 (JICA: Japan International Cooperation Agency) が荷なっているといえる。

保健医療技術協力の内容は、1) 相手国の医師等技術者の日本への研修受入れ、2) 医師等医療関係日本人専門家の相手国への派遣、3) 協力分野に必要な機材の供与、という3要素を主体としている。これらの事業は相手国からの政府間要請に基づき、それぞれ単独に行われることもあるが、現在の技術協力の主体は上記3要素を同時に、適切に組み合わせることにより、相手国が自主的に樹立した計画に対して、長期にわたって協力する形の、いわゆるプロジェクト形式 (Project type) と呼ばれるものである。この協力は1983年度においては、アジア地域22、中近東アフリカ地域8、中南米地域9、大洋州1の計40、28カ国において実施された。

開発途上国は多くが熱帯地域にあり、いわゆる熱帯病に対する技術協力が従来から続けられており、大きな役割を有している。しかし最近は多種多様な協力要請がみられてきている。

保健医療に関係する協力を広くとらえると、借款による経済協力、無償資金協力による協力、海外青年協力隊事業などが行われている。

## 一般講演

### 1 興味ある胸部X線写真経過を示した肺犬糸状虫症の1例

明石 光伸

(大分大・保健管理センター)

田代 隆良 (大分医大・二内科)

坪井 峯男 (大分県農管理センター)

荒木 国興

(国立公衆衛生院・寄生虫)

患者：53歳，男。生来健康であったが，昭和50年8月職場健康診断にて右下肺野の多発結節状陰影を指摘され，1年間抗結核剤の投与を受けた。その後結核腫として経過観察されていたが，多発結節状陰影は7年間の経過で順次消滅し孤立性となった。検査所見では好酸球増加と軽度のIgEの上昇以外特に異常は見られなかったが，臨床および免疫学的に肺犬糸状虫症と診断しMebendazole投与を行い現在その経過を追究している。

### 2 人結膜に寄生した東洋眼虫の症例

柴田 博 (県立宮崎病院・眼科)

澤田 惇 (宮崎医大・眼科)

石井 明 (宮崎医大・寄生虫)

東洋眼虫は，元来，家畜の結膜囊および涙囊内に寄生するもので人体寄生は稀なものとされてきた。わが国では1957年に萩原らの報告以来，約40例ある。今回，結膜囊内の東洋眼虫寄生例を2例経験したので報告する。

症例1は24歳の主婦。住所は宮崎市。犬などの家畜の飼育なし。右眼の痒感と結膜囊内の虫を主訴として県立宮崎病院眼科を受診した。右眼結膜の充血がみられ，右上円蓋部結膜の外方に，糸状の半透明な虫体が活発に運動しているのがみられ，摘出した。摘出した虫体は体長16.8-17.3mmの雌3匹と9.9mmの雄1匹であった。

症例2は2歳の女兒。住所は児湯郡都農町。家業は農業で牛3頭，鶏10羽飼育。左眼の結膜囊内の虫に気づき県立宮崎病院眼科を受診した。左眼

結膜の充血がみられ，糸状の半透明な虫体が活発に運動しているのがみられ摘出した。摘出した虫体は体長15.5mmの雌1匹と体長11.0mmの雄1匹であった。

その虫体所見は，丸い深い口腔内に歯がなく，雄虫尾の乳頭の存在，副交接刺がみられず，雌虫の陰門の位置から*Thelazia callipaeda*と同定した。

### 3 大分県における東洋眼虫症の発生状況

中島 創 (大分医大・学5)

高岡 宏行 (大分医大・医動物)

坂本 英世 (大分医大・眼科)

1983年8-10月，大分県下の35眼科医院に対して東洋眼虫の人体寄生に関するアンケートおよび面接調査を行い，14例の新しい症例を得た。このうちデータの明確な9例と過去発表された9例のうちデータの明白な7例の計16例を用いてその発生状況を分析した。その結果，本症は大分県下に広範に発生し，特に平野部から山間部への移行地域の溪流沿いの農村に多かった。本症の発生は5-12月にみられたが，中間宿主メマトイの活動最盛期から終期の夏から秋にかけて多かった。また発症の年齢別では，10歳未満の幼児と60歳以上の高齢者におのおの5および9例と多かった。また農業従事者に多い傾向が見られた。これらの結果から，感染予防対策も考察した。

### 4 糞線虫症ならびにサイアベンダゾールによる治療について

尾辻 義人，原田 隆二，橋本 修治  
(鹿児島大・医・二内科)

私共が最近経験した糞線虫症例を中心にその臨床像およびThiabendazoleによる治療成績について述べる。

1) 奄美大島県立病院における糞線虫症患者の推移をみると他の寄生虫の激減に比し，糞線虫症患者発生は横ばいで，検便で4.3%に糞線虫幼虫を発見した。2) 推定感染地は奄美大島12例，沖

縄 6 例, 種子島・屋久島 3 例と南西諸島に多かったが, 九州全地区より患者発生がみられた。九州以外の症例が 7 例みられたが, 推定感染地は沖縄, 奄美大島, 種子島, サイパンであった。3) 診断は糞便中幼虫検出が 31 例と最も多かったが上部消化管 X 線像 2 例, 十二指腸粘膜生検 3 例と他疾患を疑われて発見された例もみられた。4) 自覚症状は下痢, 嘔気, 嘔吐, 腹痛, 腹部膨満感など消化器症状が最も多かったが, るいそうも 11 例と目立った。これは消化吸收障害を来す程消化管に障害を来しているもので, 消化管特に上部小腸, 胆膵系の X 線像, 内視鏡像について供覧した。検査成績では白血球分類で 30 例中 17 例が好酸球増多がみられた。血清総蛋白も低下傾向にあり, 6.0g/dl 以下が 30 例中 11 例あった。これらは駆虫で急速に改善した。5) 成人 T 細胞性白血病, 糖尿病, 慢性腎不全 (血液透析) などや免疫抑制剤の使用で免疫不全を思わせる病態に合併した糞線虫症例が 6 例みられた。6) 29 例に Thiabendazole による駆虫を実施した。Thiabendazole は 50mg/kg (1 日量), 3 日連続を 1 クールとして実施したが, 1 クールで糞便内幼虫が陰転化したもの 23 例, 2 クールが 4 例, 3 クールが 2 例であった。何れも糞便内幼虫は陰性になった。7) 副作用は 32 例に Thiabendazole を投与したが嘔吐, 悪心, 食欲不振などで 3 例は投薬を中止した。消化器症状を中心とした副作用が 32 例中 12 例にみられたが何れも一過性で数日で軽快した。尿・血清アマラーゼの上昇を認めたものが 1 例あった。

##### 5 最近経験したマラリアの 3 例

松岡 均, 楠根 英司, 前田 宏一,  
浅井 順子, 横田 勉, 橋 宣祥,  
津田 和矩 (宮崎医大・二内科)  
石井 明 (宮崎医大・寄生虫)

現在, わが国には国内発生のマラリアはないといわれている。しかし毎年全国で 40-50 例のマラリアが報告されており, これはいわゆる輸入マラリアである。宮崎県においても年に 1-2 例のマラリアが発生しているようである。我々も昭和 57 年より 3 例のマラリアを経験したので報告する。

症例 1. D. M. 44 歳, 男, アメリカ白人。主訴は悪寒, 発熱。ヨットで世界一周中に昭和 57 年 3 月 9 日宮崎県に寄港した。同 11 日より悪寒を伴う 40°C 台の発熱出現。三日熱マラリアと診断された。感染地は不明であった。クロロキン, プリマキン投与を行った。

症例 2. K. C. 32 歳, 男, 韓国人, 船員。昭和 57 年 10 月 30 日よりニューギニアに滞在, 同年 11 月 18 日より悪寒を伴った 40°C 台の発熱, 頭痛出現。同 20 日より悪心, 嘔吐に続き意識状態低下出現。末梢血に感染赤血球  $4.9 \times 10^4/\text{ml}$  認め, 熱帯熱マラリアの重症感染で脳マラリアも合併していると考えた。初回治療 (クロロキンとキニーネ併用) 後 10 日目に再発し, クロロキン耐性株と考えた。キニーネ, MP 錠で治癒した。

症例 3. G. Y. 26 歳, 男, 日本人。自動車整備士。主訴は悪寒, 発熱。海外青年協力隊の一員として昭和 56 年 10 月から 2 年間ケニアに滞在。昭和 57 年 1 月に熱発し, マラリアと診断され, その後 3 回熱発作を認めた。昭和 58 年 10 月帰国。同年 11 月 10 日発熱あり, 三日熱マラリアと診断され, クロロキンとプリマキンで根治療法を行った。

以上, 三日熱マラリア 2 例と熱帯熱マラリア 1 例の治験例を報告した。今後, 海外旅行が盛んになるにつれ, どの地にあっても輸入マラリアの発生例は増加すると考えられる。

##### 6 熱帯地住民の発汗機能

大渡 伸, 藤原真理子, 岩元 純,  
Hw. Soeliadi, 范 育仁,  
土屋 勝彦, 小坂 光男  
(長崎大・熱帯医研・疫学)

幾世代にわたって熱帯地住民は生下時より暑熱環境に生活している為, 暑熱環境への適応性変化は機能性変化と共に器質性の変化も兼備しており, 体型は四肢長, 皮下脂肪の減少, 能働汗腺数の増加など, 熱放散に有利な特徴となっている。今回我々はインドネシア人を被験者とし, 熱放散反応のうち特に発汗能を中心に暑熱順化の形成過程にみる変化を, サーモグラフィーを用いて検討した。被験者は 37 歳の男性。体重 63 kg, 身長 167 cm,

体表面積は約 1.71 m<sup>2</sup>。基礎代謝率 6.1%。通常着用している衣服が 2.3 clo。出身地のジョクジャカルタ市は南緯 7 度付近にあり、月別平均気温は、最高値で 30°C 以上、最低でも 20°C 以上と報告されている。実験方法は被験者を人工気象室に安静させ、体前面をサーモグラフィーで記録しつつ、口腔温、上腕・背部・膝部の皮膚温をサーミスターにて測定した。実験の過程で、局所刺激として両膝下部を湯湯 (43-44°C) に 30 分間浸し発汗を誘発した。その結果、口腔温は 36.7°C から 37.55°C に上昇した。各皮膚温は膝の上部で 33.4°C から 37°C まで上昇したが、背部・上腕部ともに有意な変化は認められなかった。サーモグラフィーにより前胸部の特定のエリアの平均皮膚温の解析では、発汗による皮膚温下降が観察された。即ち上胸部で 35°C から 33°C、両下胸部で 35.4°C から 32°C に下降した。この過程で一側の側胸部皮膚圧迫にて半側性発汗を促すと、皮膚温降下の左右差がより顕著となる。この発汗発現までの潜時は、刺激開始後約 10 分であり、因に通常日本人は刺激なしで発汗してしまう。以上、本被験者は、発汗の閾値が高く、その潜時は延長し、基礎代謝の低下、皮膚熱放散能の増加など、熱帯地住民の特徴的な体質を兼備していることを示唆している。また、サーモグラフィーによる皮膚温の検知は発汗の過程を追跡する上で有力であった。今後これ等のデータの集積を計り、更に詳細を報告していく所存である。

#### 7 西サモアにおけるフィラリア症伝播の疫学 一部落の環境と媒介蚊の分布、並びに仔虫 保有率について—

木村 英作

(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

W. A. Samarawickrema

(WHO, マレーシア)

L. Penaia

(西サモア国厚生省)

西サモアのフィラリア症 (フィ症) は、昼間亜定期出現性バンクロフト糸状虫によるもので、*Ae. polynesiensis* 及び *Ae. samoanus* が媒介する。実験室内の感染実験では前者が後者より有能な媒

介蚊であることが示されているが、実際のフィ症伝播における両者の相対的役割については知られていない。1978 年より 1 年間、28 部落 7,430 名を対象に 1 ml Nuclepore filter 法を用いて仔虫保有率を調べると同時に、これらの部落で human bait を用いた媒介蚊の biting density/man・hour を調査した。その結果、*Ae. polynesiensis* が優勢な村では、*Ae. samoanus* が優勢な村に比し、仔虫保有率が明らかに高いことが確認された。

*Ae. polynesiensis* の breeding site は多様で、空カンなどの人工容器から自然の tree hole, カニ穴などに及ぶ。カニ穴の役割については蚊の撲滅活動の立場より関心が持たれているが、量的把握がむずかしく、フィ症伝播におけるカニ穴の役割は依然不明である。我々はカニ穴が無数に存在する海岸の村と、それらの無い内陸部の村を選び出し、両者において *Ae. polynesiensis* の biting density を比較した。その結果、海岸部と内陸部で差は認められなかった。カニ穴以外の breeding site に関しては、海岸部、内陸部ともに差が無いとみなされることから、西サモアの場合、カニ穴は *Ae. polynesiensis* の breeding site としてその population に影響を与えるほど重要な役割は果していないと考えられた。

#### 8 中南米産オンコセルカ症伝搬ブユ数種の蔵 卵数について

馬場 稔, 高岡 宏行

(大分医大・医動物)

鈴木 博

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

野田 伸一 (鹿児島大・医・医動物)

多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)

J. O. Ochoa A.

(グアテマラ国マラリア研)

オンコセルカ症のブユによる伝搬機構を考察する際には、吸血に飛来したブユの日齢を知る事が不可欠である。近年、アフリカのオンコセルカ症の主要伝搬者である *S. damnosum* s.l. において、経産にともなう卵数の減少からそれまでの産卵回数を推定する事ができるという報告がなされてい

る。今回、中南米産ブユ数種について、その蔵卵数に関する資料を得たので報告する。即ち、グアテマラ産の *S. ochraceum*, *S. haematopotum*, ベネズエラ産の *S. metallicum*, *S. pintoï* の4種について、飛来した雌成虫を充分吸血させ、その後飼育して成熟卵数を数えた。また、体の大きさと蔵卵数との関係を見る目的で、*S. ochraceum*, *S. metallicum*, *S. pintoï* の3種については翅長をも測定した。その結果、何れの種についてもその蔵卵数には連続的な変化がみられ、過去の産卵回数を推定する事はできなかつた。各種の蔵卵数は *S. ochraceum*:  $179 \pm 82$  (平均 $\pm$ SD,  $n=59$ ), *S. haematopotum*:  $80 \pm 33$  ( $n=207$ ), *S. metallicum*:  $209 \pm 48$  ( $n=127$ ), *S. pintoï*:  $285 \pm 78$  ( $n=110$ ) であつた。次に、翅長と蔵卵数の関係では、何れの種にも強い相関は得られなかつた。以上の結果から、中南米のオンコセルカ症伝搬ブユでは卵数からの日齢の推定は困難であり、他の方法の開発が必要であると考へられた。また、種毎の蔵卵数の違いがみられたが、この点についても今後考査を進めて行きたい。

#### 9 ベネズエラ国アマゾナス州のオンコセルカ症の伝搬機構の研究、その問題点

高岡 宏行 (大分医大・医動物)

鈴木 博

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

野田 伸一 (鹿児島大・医・医動物)

多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)

L. Yarzabal, M. G. Basáñez

(ベネズエラ国立皮膚科研・寄生虫免疫)

1982年10, 11月、南米ベネズエラ国アマゾナス州のオリノコ河上流域に広がるオンコセルカ症流行地数地区において本症の伝搬に関して昆虫学的調査を行い、次の結果を得た。人吸血ブユとして *Simulium pintoï*, *S. pseudoantillarum*, *S. yarzabali*, *S. exiguum* および *S. amazonicum*-グループの4種1種群が捕集された。このうち、*S. pintoï* は標高200-1,000mのパリマ山系で、*S. amazonicum*-グループは低地のオリノコ本流沿いで優先種で

あることが判つた。さらに感染実験の結果、*S. pintoï* は、マイクロフィラリア多数とりこみにより早期に死亡すること、しかし、本種体内での *Onchocerca volvulus* 幼虫の感染型までの発育は正常であることが明らかになつた。

本流行地は1978年 Rassi らの報告以来まだ日が浅く、今回の調査でも本症の伝搬様式を十分知り得たとはいえない。しかし、今回の現地調査を通じて、本症の伝搬を構成する種々の因子、また各因子の相互関係において、本流行地は西半球の他の既知流行地と著しく異なつてゐることが示唆された。例えば、寄生虫側因子として、ブユが媒介する他のフィラリア症の存在 (*Mansonella ozzardi*); 媒介者側の因子では、*O. volvulus* の媒介種が複数の可能性(地域別、標高別、季節別など)、*O. v.* 媒介種が同時に *M. ozzardi* も媒介する可能性、類似種複数から構成される *S. amazonicum* グループの関与、*S. pintoï* の発生源(大河)の広さ、飛翔活動範囲(広い?); さらに宿主側因子として、ヤノママ族の集団生活および移動の習慣、保虫宿主としての野生動物の存在の可能性。従つて、今後、本流行地の伝搬機構を解明していく上での問題点は、上記の特徴ある諸因子、およびそれら因子の相互関連性を考慮に入れ、新しい観点から調査を行うことであらう。

#### 10 ベネズエラ国オンコセルカ症対策プロジェクトの経験から

吉村 健清 (産業医大・公衆衛生)

昨年11月に1カ月間、WHOの疫学のコンサルタントとして南米ベネズエラに行った。目的は、現在ベネズエラで進行中の熱帯病対策プロジェクトを疫学的な立場から検討し、問題点を探り、ベネズエラのWHO代表に報告書を提出することであつた。この熱帯病対策プロジェクトでは、ベネズエラ国アマゾナス州の熱帯病全般について、研究対策を行うことになつてゐるが、現在のところ主にオンコセルカ症に重点がおかれてゐる。今回はベネズエラのプロジェクトを見て気付いた点を述べる。

1. データ収集: 本プロジェクトでは、非常に

多くの情報がいろいろな調査票に基づいて、収集されていた。しかしながら、データ収集の方法ならびに調査票の設計に統一性がとぼしく、情報の比較性に問題があるところがある。

2. データ処理システム：デスクトップコンピュータを用いて、データベースの作成を試みているが、大容量データである点、また、情報のコード化の欠除のため問題が生じている。

3. 研究陣の体制：寄生虫学、免疫学、生物学の専門家がおり、その方面については体制は充分と考えられるが、疫学、臨床科学の専門家の不足のため、熱帯病対策のプロジェクトとしては研究が偏っている。

4. 他の機関、プロジェクトとの統合：オンコセルカ症に対しては、当プロジェクトと厚生省のオンコ症対策プロジェクトがあり、別々に活動している。情報交換等の協力体制が必要である。

以上のような観点から、プロジェクトの企画、運営、情報処理に疫学者の関与が重要であると考えられ、疫学の考え方が熱帯医学の分野に積極的にとり入れるべきであると考えた。

## 11 米国占領下における沖縄の官営医療制度 (1945—1951) について

照屋 寛善, 平良 一彦, 宮城 重二  
(琉球大・医・保健管理)

終戦と共に実施された沖縄の医療制度は、米軍が占領当時、宣撫工作として着手した施療形態の医療機構から出発したものである。即ち、大病院・小病院・診療所を全島的に配置し、生き残った医者も復員してきた医者も強制的に動員配置して住民の診療に当たらしめたものである。それから次第に住民の移動、部落の復興、生活の安定が進むにつれ、医者<sup>1</sup>の配置も病院の大小形態も少々修正されて胡差・名護・宜野座に中央病院、石川・前原・首里・糸満・知念に地区病院、各村毎に診療所<sup>2</sup>があって、全島的に医療機関を按配してどの地区にも地区病院をおき、末梢の村々には診療所<sup>3</sup>があって、住民は村の診療所で診療を受け、重症者は地区病院に、また次いで中央病院に送られる仕組みである。医薬品はサプライから無料配

給され、医師・歯科医師はすべての企業が自由経済に移された後も個人開業を許さず、所謂公務員医師となり、形態的には国営医療（公営医療）のような医療制度となった。その為に医師の都市集中とか無医村問題等は起こらず、医療の普及と低廉な医療・比較的地域隔差の無い平等の診療を受けるという利点が生じた。従って当時の民衆には一般的に歓迎され、民政議会もこの制度の継続を陳情している。しかし、時が経つにつれ不満も多くなってきた。それは公営医療の形をなしているが、実際的には米軍占領下の統制医療で治療面に大きな制約があった。また交通事情その他社会的背景の中で医療圏が限定され、公営なるが故に住民移動や都市の変貌に急速に対応出来ず、おまけに任用・運営等に官僚的であった。

## 12 ジョン・ダンの「瞑想」をめぐる一熱帯医学に投げかけるもの一

多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)

「なんびとも一島嶼にてはあらず、なんびとも自らにして全きは無し…」という詩「瞑想」はダンが1623年（51歳）に熱病の床にあって記した「重病にかかりし時の祈り」の中の一節である。詩人にして聖ポール寺院（ロンドン）の首席司祭であったダンが生きた時代（1572—1631）は海を媒体とした（ヨーロッパ）人類の視圏拡大がその絶頂に達した時代であった。しかし旧・新大陸とも戦争・悪疫が充ち溢れ、人の生命はたやすく失なわれるはかない存在であった。新大陸でも利権をめぐる著名な征服者達や、無名の人々が数多く非業の死をとげていた。このような状況はヨーロッパに視点を置くダンにとって、相互に無関係な個々人の死とは割り切れなかったであろう。ダンはカデイス・アゾレス諸島への航海を通して、海に対する特別なイメージを抱いていた。西山（1964）によればダンは「海は住むべき場所ではなく、住処への航程である点でこの世は海に似ている」と述べた。ダンの海は人生とオーバーラップし、その中の島や大陸はシンボリックな存在であった。こうして熱病の身にふと耳にした「今鳴りひびいている悲しい<sup>かね</sup>吊鐘は、見知らぬ人の死を

悼む鐘ではなく、実は自分のために鳴っているのだということをダンは思い至った」(岡田, 1970)時、始めて「個人と人類」は「島と大陸」に対比されるのではなく、「一片の土塊と大陸」のメタファーこそが適切だったことにはじめて気付いたのであろう。「瞑想」の境地はいわば神の視点とも云うべき形而上の理念をあらわしていると云える。この視点から見れば、狭い「我」のためでも、狭い「彼」のためでも無い「彼も我もが属する全体」のためという理念が、熱帯医学にとって真に重要であり、かつ存在理由を与え得るのではないだろうか。

### 13 タイにおける Dengue 出血熱患者および脳炎患者血清の免疫酵素測定法

分藤 桂子,

Charnchudhi Chanyasanha,

Cleotilde A. Torres, 五十嵐 章

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

東南アジアにおいては、毎年多数の Dengue 出血熱 (DHF) 患者が発生し、小児のウイルス感染症として重要視されている。またタイのチェンマイ地区では1969年大流行以来毎年多数の脳炎患者が、Dengue ウイルスと同じフラビウイルスに属する日本脳炎 (JE) ウイルスにより発生している。我々は免疫酵素測定法 (ELISA) を、DHF 及び脳炎患者の血清診断に応用し、両者の鑑別を試みた。

DHF 患者血清は、1982年五十嵐等によりチェンマイ地区において採集された血清、1978年福永等によりチャンタブリ地区で採集された血清を用いた。対照としてチェンマイ地区の脳炎患者、日本の日本脳炎患者、およびチェンマイと北海道の正常人血清を用いた。

IgG-ELISA 抗体価の測定は間接法、IgM-ELISA 抗体価の測定は間接法及び IgM-Capture 法により行い、HI は Clarke-Casals の微量変法を用いた。

DHF と診断された患者血清165について HI 抗体価の対数 (X) と IgG-ELISA 抗体価の対数 (Y) は相関係数0.82-0.88で相関した。DHF 患者血清66対のうち Dengue 及び JE のどれか1つの抗原で

HI が4倍以上の上昇を示したものは47検体あり、そのうち34検体は IgG-ELISA でも4倍以上の上昇を示し残りの13検体もすべて IgG-ELISA 抗体価16,000以上を示した。一方 IgG-ELISA では39検体が4倍以上の上昇を示し、このうち5検体は HI で陰性、または判定不能であった。脳炎及び DHF の患者血清の D1, D2, JE 抗原に対する IgM-抗体価を IgM-capture 法で測定したところ IgM-ELISA 抗体価は初感染時で高く同種の抗原とより強く特異的に反応した。これらの結果より、同種の抗原に対する IgM-ELISA 抗体価が200以上で異種の抗原に対する抗体価の比が4以上の場合は、それぞれ診断が可能と思われる。

### 14 ゲタウイルス感染 BHK 21 細胞に見られる線維様構造

Ronald R. Matias, 五十嵐 章

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

ゲタウイルスは蚊で媒介されるアルボウイルスでトガウイルス科アルファウイルスに属し日本から東南アジアおよびオーストラリアに存在するがこのウイルスの基礎ウイルス学的研究は他のアルファウイルスに比べ殆ど行われていない。我々はゲタウイルスに感染した培養細胞の微細構造を電子顕微鏡的に観察していたところ、ゲタウイルスおよびそれに関連するアルファウイルスに感染した BHK21 および LLCMK<sub>2</sub> 細胞に特徴的な線維様構造物が出現する事を発見した。径 10-14 nm の電子密なこの構造物は特定の方向性をもたない集合体として感染細胞の細胞管内に感染後3時間目ですでに出現していた。感染後シクロヘキシミド、アクチノマイシン D、ヒドロキシウレアを加えてもこの構造物の出現は阻害されなかったが、感染前2時間目にシクロヘキシミドを加えた細胞にはこの構造物は見られなかった。これに対して、ゲタウイルスに感染したヒトスジシマカ培養細胞クローン C6/36 ではウイルス増殖が見られるにもかかわらず線維様構造物は出現しなかった。

これらの所見から、この線維様構造物はウイルス増殖に必要な不可欠のものではなく、ウイルス感染によって BHK21 および LLCMK<sub>2</sub> のような哺乳

類培養細胞において出現する、タンパク合成を伴う二次的变化に起因すると考えられる。

### 15 狂犬病ウイルス赤血球凝集抑制反応の改良とその応用

万年 和明, 三舟求真人

(大分医大・微生物)

狂犬病ウイルスの赤血球凝集抑制 (HI) 試験は、血清中のインヒビター (NSI) の除去が困難なこと、抗体検出感度が極めて低いことから殆ど使用されていない。昨年の本学会で、我々はヒトおよびマウスの正常プール血清を用い、血清の希釈倍数をできるだけ低くおさえ、2倍希釈の血清を5%のコロイド珪酸 (アエロジル) で処理することにより NSI を完全に除去できること、使用鷲鳥赤血球のプロメリン処理により HA の感度を高めることにより、従来不可能だった血清希釈20倍以下の低倍の抗体を高感度に検出する可能性を報告した。今回は、ヒト、マウス、イヌの個体別血清からの NSI の除去、アエロジル処理の中和 (NT) 抗体価に及ぼす影響、ワクチン接種ヒト血清について HI と NT 価の関連について実験を行った結果、以下のことが判明した。

(1) 5%アエロジル、室温20分処理により、マウス (16検体)、イヌ (18検体) 血清からは完全に NSI が除去できたがヒト (44検体) の場合一部に低倍の NSI が残ることが判った。しかし、アエロジル処理前にアセトン処理を行うことによりこの低倍の NSI は100%に除去可能であった。

(2) ヒトおよびマウス免疫血清のアエロジル処理により、NT 価は未処理の場合約 1/3 になったが、この減少率は従来のカオリン処理の場合のそれとほぼ同じかやや優れていた。

(3) ワクチン接種後種々の時期に採血したヒト血清 (15検体) について改良した方法による HI 試験を行い、NT 価との相関を調べた結果、血清希釈20倍以下の抗体価が、従来の方法の平均5倍の高感度で検出され、また、HI 価と NT 価との比は 1/5 と非常に感度よく検体価が定量可能であることがわかった。

### 16 Kaposi 肉腫の組織像について

板倉 英世, 鳥山 寛

(長崎大・熱帯医研・病理)

Kaposi 肉腫は赤道アフリカ、中央アフリカに多発するとされているが、地中海沿岸地方、南欧、北欧および北米にも散見されるといわれている。人種別による頻度も以前から報告されているが明確ではない。本疾患はその特異な病態像を呈することもあって、上記の如く疫学的方面のみならず地理病理学的、人体病理組織学的、病態学的、臨床的、発癌学的その他数々の学問的方面で極めて重要な問題を秘めている。さらに近年北米合衆国を中心としてホモセックス人種間に爆発的に拡まった AIDS (後天性免疫不全症候群) において実にその半分以上の症例に Kaposi 肉腫が発生するに至り本疾患の本態が再び議論されるようになってきている。

我々は1971年頃より赤道東アフリカにおいて同疾患が多発することに注目し、主として病理形態学的に検索を続けている。そして病理組織発生について検討を加えてきた。さらに UCLA から昭和 1 病理、東邦大大橋病院病理経由で送られて来た AIDS の材料を検索する機会を得た。

Kaposi 肉腫を病理組織学的に検索すると、同疾患の中肢型 (皮膚型)、リンパ型、内臓型ではその終末像は類似するようではあるが病変の推移はかなりそれぞれの型で特徴的である。すなわち、四肢型では皮膚の浮腫から始まり、肉芽様病変、血管肉腫様病変を呈しながら次第に線維肉腫様病変に進むのである。リンパ節型の多くは比較的早い時期から線維肉腫様の病変を呈するようである。

AIDS に関しては目下米国を中心に積極的に研究がなされている。それらの症例の多くは上記の如く Kaposi 肉腫が併発している訳であるが、その終末像はやはり線維肉腫様の病変を呈しているようである。ただし初期病変から進行する病理学的推移がアフリカの症例と多少とも差異を示すようであるので、我々は比較病理学的に研究を進めている。

### 17 実験的マウスバベシア症に関する病態生理学的研究

河野 宏, 牧村 進, 薄井 萬平  
(宮崎大・農・家畜内科)

バベシア病は、貧血、発熱、血色素尿および元氣消失等を主徴とする急性または慢性伝染病であり、家畜、特にウシ、イヌに重大な被害をもたらす疾病である。今回演者らは、その基礎的研究として、実験的に ICR マウスに *Babesia rodhaini* 寄生赤血球  $1 \times 10^6$  を腹腔内注射して、感染マウスの病態生理について検索を行った。種々の原虫感染宿主における多様な免疫応答のうち、免疫抑制現象は臨床的にも重要な問題で、この現象を説明する1つの手段として、バベシア感染マウスの脾臓におけるヒツジ赤血球に対する抗体産生細胞数の変動についても検討を行った。さらに、バベシア感染マウスの肝臓、腎臓および脾臓の病理学のおよび免疫病理学的検索を行った。

その結果、注射後初めて末梢血中にバベシア寄生赤血球が現われたのは2-3日後で、寄生率の上昇パターンは、感染初期では緩やかで、感染後期では急激であった。また、赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量は、虫体寄生率と強い負の相関を示し減少した。赤血球の浸透圧抵抗も感染末期で減少し、感染後6日目には著明な血色素尿を認めた。血清バベシア抗体価は、IgG、IgM の両者とも感染後4日目には認められたが、IgM 抗体価の方が高かった。脾臓の抗体産生細胞数は、感染後4日目でやや減少し、感染後6日目になると著明に減少した。病理学的所見では、著明な糸球体腎炎像を呈し、また、腎糸球体にはIgGの沈着が認められた。

以上の所見より、*B. rodhaini* 感染 ICR マウスでは、著明な溶血性貧血が起り、抗体産生細胞の減少することがわかった。このことは、マウスバベシア症においても、何らかの原因で免疫抑制現象が起こっていることを示唆するものである。

### 18 実験室内での大平肺吸虫サイクルの維持 波部 重久 (福岡大・医・寄生虫)

第1中間宿主である貝はムシヤドリカワザンショウ *Angustassiminea parasitologica* を使用するが、この貝への大平肺吸虫感染には地域差がみられるので、流行地あるいはその附近のものを使用した方が良い。貝は素焼きの植木パチに半分ほど河口の土を入れ、充分湿らせた上で飼育する。エサは時々、米あるいはビスケットの粉を与える。貝1個あたりの感染ミラシジウム数は3-5匹で、2-3時間接触させると、ほぼ80%の貝が感染する。感染から成熟セルカリア産出までは20-25°Cで、約3カ月である。貝1個あたり500-2,000のセルカリアが得られる。第2中間宿主はクロベンケイ *Sesarma dehaani* を用いる。カニへの感染は、水を5-7mmの深さに入れたビーカー中にセルカリアとカニとを入れ、1日放置する。カニは水槽に土およびスポンジを入れ水が少し溜まる程度にして飼育する。エサは米、ニボシ、イネ科植物の根、葉などを時々与える。感染から2カ月以後に、投与セルカリアの10-20%が成熟メタセルカリアとして得られる。寄生部位は自然感染の場合、回収メタセルカリアのうちほぼ60%が肝臓から、35%が筋肉からであるが、上記の場合では、肝臓から37%、筋肉から56%であった。このメタセルカリアをラットに感染させると40-50日で成虫が得られる。すなわち20-25°Cの室温では大平肺吸虫の1サイクルを、ほぼ8カ月で廻すことが出来る。

### 19 N-2-fluorenylacetylamide 投与による肝吸虫感染ハムスター肝の病理学的変化について (第2報)

飯田 広樹, 塘 普  
(久留米大・医・寄生虫)

演者らは先に、発癌剤 N-2-fluorenylacetylamide (2-FAA) の長期投与によって肝吸虫感染動物が非感染動物に比較して、胆管系腫瘍の発生時期が早く、その発生頻度と悪性度も高いことを報告した。今回は肝吸虫感染群と非感染群に発癌

剤を投与し、前回の実験で悪性腫瘍の発生しなかった24週までの肝の経時的変化、特に胆管の形態的变化を比較検討した。動物は100g前後のハムスター♀を用い、感染群と非感染群の2群に分け、感染群には1匹当たり40隻のメタセルカリアを感染させた。発癌剤は0.03% 2-FAA 混合食として、感染と同時に両群に投与を開始し、実験期間を通して投与した。発癌剤投与開始後3週から24週の間で剖検し、摘出肝組織はホルマリン固定後、パラフィン包埋切片とし、H・E染色とPAS染色をして鏡検した。肉眼所見：感染群では、肝は黄染し、その表面が粗大顆粒状、結節状を呈し、33例中8例に暗赤色弾性軟の腫瘤を認め、また、12例に腹水を認めた。非感染群では、肝腫大を認めるのみであった。組織学的所見：感染群では10週から2-FAAの影響が表われ、glandular lesionとcystic lesionの増生が認められ、12週以後になるとこれらの増生が肝実質内にも波及しchol-angiofibrosisを呈した。増生上皮細胞には核分裂像がみられたが、著しい異型性はなかった。肝細胞内にはintranuclear eosinophilic bodyがみられ、腫瘤は肝細胞の肥大結節であった。非感染群では、12週にoval cell glandular lesionおよびcystic lesionの軽微な増生を認めたが、24週経過した例でも増生の程度は軽度であった。感染群と非感染群ともに増生上皮細胞にムチンの産生はなかった。以上の所見から、非感染群に比較して感染群の方が2-FAAの影響を早期に強く受けることが分かった。

## 20 日本住血吸虫虫卵の免疫組織化学、特に虫卵内IgG様物質の存在について

平田 瑞城，塘 普

(久留米大・医・寄生虫)

日本住血吸虫感染マウス肝臓内の虫卵について宿主免疫グロブリンの分布を調べた。マウスは感染後4-18週に1-2週間隔で1-2頭ずつ剖検し、肝組織を95%アルコールで固定後、型の如くパラフィン切片を作製した。免疫組織化学として蛍光抗体法、未標識酵素抗体法を行い、第一次抗血清として抗IgG, IgM, IgAを、対照実験には正常

ウサギ血清, IgG分画吸収抗血清を用いた。染色結果は両法でほぼ同様であり、IgG陽性所見は虫卵内部、虫卵周囲、肉芽腫周囲の線維組織、また散在する形質細胞、沿岸細胞にみられた。虫卵内の反応部位は主にmiracidium周囲に一致し、体部では稀にみられた。その陽性頻度は材料(マウス)によって異なり、感染6週のもので80%の虫卵に陽性であり、その他では0-8%と少なかった。また感染週と陽性率との間には注目される傾向は見出されなかった。他の抗血清, IgG, IgAでは陰性であり、対照として用いた正常ウサギ血清, IgG分画で吸収した抗IgGでも陰性であった。次に酸処理が反応性に与える影響について調べた所、Glycin-HCl (pH 2.0) 30分処理でIgGに対する反応性は消失した。それに対し、虫卵抗原の反応性は酸処理後、一部の虫卵では増強した。以上の事から、虫卵内部にはIgG様の反応性をもった物質が存在するが、そのものは虫卵の構成物質とは異なった態度を示すことから宿主からの外来性成分と考えられる。

## 21 尿中のビルハルツ住血吸虫卵数の表現法について

—単位尿量当たりの虫卵数と単位時間当たりの虫卵数の比較—

嶋田 雅暁，佐藤 克之，青木 克己  
(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

平田 瑞城 (久留米大・医・寄生虫)

ビルハルツ住血吸虫症ではIntensity of Infectionを表わす示標として単位尿量中の排泄虫卵数が最も一般的に用いられている。しかしこの値は尿量の変動に伴ってたやすく変わり、患者のIntensityを長期間継続的に観察しその微小な変化を把むためには不適當と考えられる。本研究の目的は検査毎の虫卵数ができるだけ一定で変動の少ない方法を見出すことである。

虫卵数を表現する単位として以下の4通りを用い、その日々の変動の大きさを比較した。

単位 1) Egg count/10ml, 単位 2) Egg count/sample, 単位 3) Egg count/10ml/hour, 単位 4) Egg count/hour。

ケニア人小学生12名から5日間毎日採尿し、上記のそれぞれの単位を用いた場合の、平均排泄虫卵数と変動係数を計算した。

その結果、12名の変動係数の平均はそれぞれ単位1)を使った場合84%、単位2)で61%、単位3)で51%、単位4)で41%となり、単位1)と単位4)では統計学的に有意の差を認められた。即ち、単位1)を使うと単位4)を使う場合に比べ、見かけの排泄虫卵数の変動が大きいたことが明らかになった。

以上のことから、患者の Intensity of Infection の変動を長期継続的に観察する場合、排泄虫卵数は単位時間あたりで表現することが有利であることが示唆される。

## 22 単クローン抗体による日本住血吸虫虫卵抗原の解析について

石井 明, 大橋 真, 八谷 敏子

(宮崎医大・寄生虫)

G. F. Mitchell (ウォルター医学研)

P-41 は *Paragonimus westermani* 成虫抗原を用いてマウスで作製されたモノクローナル抗体で、日本住血吸虫虫卵周囲に breb type の COP (虫卵周囲沈降反応) を起こし、日本住血吸虫虫卵抗原 (SEA) の中でこのモノクローナル抗体と結合する成分は、日本住血吸虫虫卵周囲の granuloma 形成に対して強力な sensitizer となりうる (Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 61, 411)。今回は、P-41 と結合する SEA の成分が、SEA よりすでに精製

されている好酸球遊走因子 (ECF-SjE) 及びアレルギー成分とどのような関係にあるかを調べる目的で、P-41 と精製された SEA 各成分の結合性、及び SEA をカラムクロマトで分画した各フラクションとの結合性を調べた。

オクタロニーゲル内沈降反応で、P-41 は SEA と、ECF-SjE 分画に沈降バンドを形成したが、アレルギー成分 (J-1, J-2)、成虫抗原、及び Manson 住血吸虫 SEA との間には沈降バンドを作らなかった。P-41 に  $^{125}\text{I}$  をラベルし、各抗原を couple させた paper disc との結合性を調べたが、同様の結果を得た。SEA を DE52 陰イオン交換カラムにかけ NaCl の linear gradient で溶出させると、アレルギー活性の溶出する分画と ECF-SjE の溶出する分画が、P-41 に対して強い結合性を有することがわかった。アレルギー活性分画を Sephadex G200 を用いてゲル濾過すると分子量7万-20万の分画に P-41 の結合性があり、P-41 と結合する成分は非常にヘテロなものであって、J-1 (分子量26万) 及び J-2 (分子量4.6万) とは異なることが示された。一方 ECF-SjE 分画を Sephadex G200 にかけて void の分画に p-41 の結合性が見られ、ECF 活性の場合と一致したが、この分画をさらに等電点分画すると、pI 3.5 以下の成分が P-41 と結合性を示し、ECF-SjE (pI 4.1) とはやはり異なる成分であることがわかった。

# JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

---

Vol. 12 No. 4

December, 1984

---

## CONTENTS

### Original article

- Sakamoto, M., Mimori, T., Korenaga, M., Tada, I., Guillermo, Z. F. and Castro, J. C.  
Onchocerciasis: A Study on the Relation Between Laboratory Data and Reactinos  
Elicited by Diethylcarbamazine .....231-238
- Asato, R., Hasegawa, H. and Ikeshiro, T.  
Prevalence of Parasites among Vietnamese Refugees Residing in Okinawa  
Prefecture, Japan (in Japanese) .....239-246
- Sugihara, H., Nikai, T., Komori, Y., Katada, H., Mori, N. and Kishida, M.  
Purification and Characterization of Phosphodiesterase from the Venom of  
*Agkistrodon acutus* (China) .....247-254

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

c/o Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan