

# 日本熱帯医学会雑誌

第28巻 第4号 平成12年12月

## 内 容

### 原 著

- フィリピン国ルソン島で採集された*Similium* (*Morops*)亜属の1新種プユについて (英文)  
高岡 宏行 ..... 361-364
- 千葉県由来不祥猫を対象としたトキソプラズマおよびその他の消化管寄生虫感染の疫学調査 (英文)  
畑 英一, 青才 文江, 野呂瀬一美, 小林 仁, 文 恵聖, 陳 梅,  
伊藤 勇夫, 伊勢川直久, 石川 允朗, 森 茂, 矢野 明彦 ..... 365-368

### 論 考

- デング熱とデングウイルス - 熱帯医学への挑戦  
堀田 進 ..... 369-381

### 短 報

- 酸素吸入・炭酸ガス (アネロパック®) と改良型ポータブル恒温槽を用いた熱帯熱マラリア原虫患者分離株の培養 (英文)  
水野 泰孝, 畑生 俊光, 河津信一郎, 増田 剛太, 大友 弘士, 鈴木 守,  
狩野 繁之 ..... 383-385
- Oncomelania hupensis nosophora* 及び *O. h. chiui* 貝体内における日本産日本住血吸虫スポロシストの発育 (英文)  
岩永 襄, 辻 守康, 菅野 雅元 ..... 387-389

### 会報・記録

- 2000 (平成12) 年度日本熱帯医学会第1回理事会記録 ..... 391-392
- 2000 (平成12) 年度日本熱帯医学会役員名簿 (2000年12月1日現在) ..... 393
- 日本熱帯医学会雑誌編集委員名簿 ..... 394-395
- 投稿規定 ..... 396-398
- 著作権複写に関する注意 ..... 399
- 日本医学会だより ..... 400-401
- 日本熱帯医学会雑誌・第28巻総目次



# A NEW BLACK-FLY SPECIES OF *SIMULIUM* (*MOROPS*) FROM LUZON ISLAND, PHILIPPINES (DIPTERA: SIMULIIDAE)

HIROYUKI TAKAOKA

Received August 24, 2000/Accepted October 16, 2000

**Abstract :** A new black-fly species, *Simulium (Morops) liliana* sp. nov., is described from a female that was reared from a pupa collected in Banaue, Luzon Is., Philippines. In the female, this new species is distinguished from all the eight known *Morops* species reported from the Philippines by the mandible with serrations on both sides. This new species, *S. (M.) liliana*, is somewhat similar in the female to *S. (M.) disneyi* reported from Sulawesi by having the similar mandible, but easily separated from the latter by the size of the sensory vesicle and the coloration of the mid and hind tibiae. In the pupal stage, *S. (M.) liliana* is distinctive within this subgenus by having the antler-like gills.

**Key Words :** Simuliidae, black fly, *Morops*, Philippines, description

From the Philippine Archipelago, 57 *Simulium* species have been reported, among which eight species have been assigned in the subgenus *Morops* (Takaoka, 1983). Recently, one more species of this subgenus was collected from Luzon Island in the Philippines. This species is readily distinguished from all the other known *Morops* species from the Philippines and Australasian Region by the antler-like pupal gills. The female and pupa of this new species are described here.

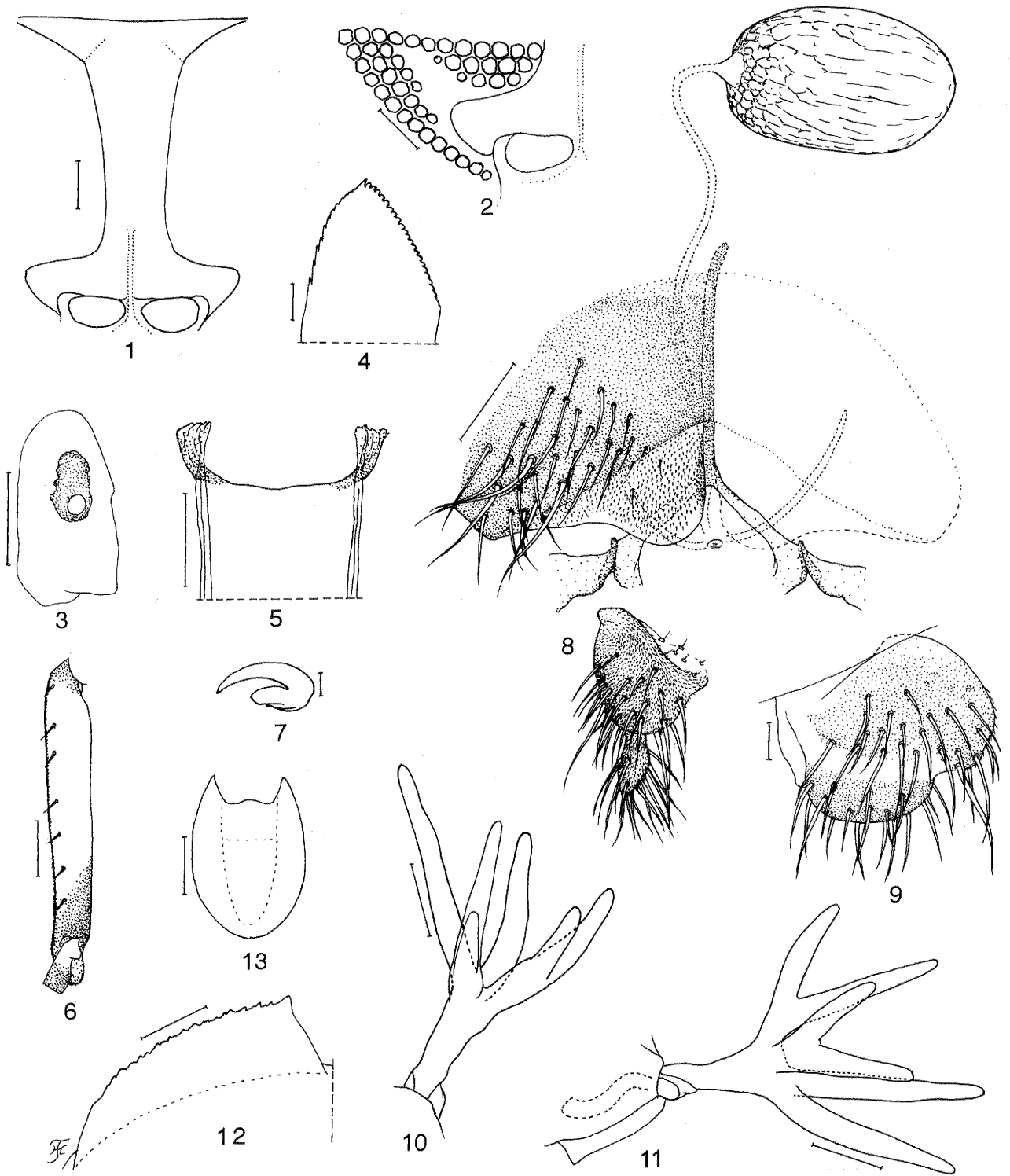
The morphological features and terms used herein follow mostly those of Crosskey (1969), and partially those of Takaoka (1983). The type specimens will be deposited in due course at the Natural History Museum (=British Museum Natural History), London, UK.

## *Simulium (Morops) liliana* sp. nov.

### DESCRIPTION.

**Female.** Body length 2.1 mm. **Head.** As wide as thorax. Frons (Fig. 1) dark brown, dull, densely covered with yellowish white, scale-like recumbent hairs, interspersed with 4 or 5 dark simple hairs along each lateral margin; frontal ratio 1.8: 1.0: 3.5; frons-head ratio 1.0: 6.2. Frontocular area (Fig. 2) well developed, narrow. Clypeus dark brown, dull, densely covered with yellowish white, scale-like recumbent hairs, intermixed with 11-13 dark simple long hairs along each lateral margin. Proboscis short, ca.  $0.56\times$  as long as clypeus. Antenna composed of 2+9 seg-

ments, scape and pedicel entirely yellow, 1st flagellar segment mostly yellow except for light brown apical 2/5 of posterior surface, and flagellar segments 2-9 brownish black except for yellow anterior surface of 2nd segment of left antenna; 1st flagellar segment somewhat elongate, ca.  $1.6\times$  as long as 2nd one. Maxillary palp composed of 5 segments, medium to dark brown, proportional lengths of 3rd, 4th and 5th segments 1.0: 1.0: 2.0; 3rd segment (Fig. 3) of moderate size, with elongate sensory vesicle, ca.  $0.35\times$  as long as 3rd segment. Maxillary lacinia with 10 or 11 inner teeth and 14 or 15 outer ones. Mandible (Fig. 4) with 20-22 inner teeth and ca. 10 outer ones (though a few outer teeth near apex vestigial). Cibarium (Fig. 5) simple, without any tubercles near posterior margin. **Thorax.** Scutum medium brown except for yellow anterior calli, subshiny, densely covered with yellowish white, scale-like recumbent hairs; scutum with 3 dark brown longitudinal vittae (i.e., 1 median and 2 submedian), all connected posteriorly to dark brown prescutellar area; scutellum light brown, covered with yellowish-white short hairs as well as dark long upright hairs along posterior margin. Postscutellum dark brown, subshiny, bare. Pleural membrane with 3-5 fine hairs. Katepisternum dark brown, longer than deep, moderately covered with dark hairs as well as whitish yellow ones. **Legs.** Foreleg: coxa whitish yellow; trochanter and femur dark yellow or light yellowish brown with apical cap of femur somewhat darker; tibia light brown with base whitish yellow and apical cap medium brown; tibia moderately



Figures 1-13. Female and pupal characters of *Simulium lilianae* sp. nov. 1-9, female; 10-13, pupa. 1, frons; 2, fronto-ocular area; 3, 3rd maxillary palpal segment with sensory vesicle; 4, apex of mandible; 5, upper 1/2 of cibarium; 6, hind basitarsus and 2nd tarsal segment showing calcipala and pedisulcus; 7, claw; 8, genitalia *in situ* (ventral view) showing 8th sternite, anterior gonapophyses, genital fork, spermatheca, paraproct and cercus (left paraproct and cercus omitted); 9, paraproct and cercus (lateral view); 10 and 11, gill filaments of right side (10, dorsal view, and 11, lateral view); 12, terminal plate of left side (end view); 13, cocoon (dorsal view). Scale bars 1.0 mm for fig. 13; 0.2 mm for figs. 10 and 11; 0.1 mm for fig. 6; 0.05 mm for figs. 1, 2, 3, 5 and 8; 0.02 mm for figs. 9 and 12; 0.01 mm for figs. 4 and 7.

covered with whitish-yellow fine hairs (brightly shiny when illuminated) on outer surface of basal 3/4; tarsus brownish black, with sparse dorsal hair crest; basitarsus slightly dilated, ca.  $6.72\times$  as long as its greatest width. Midleg: coxa medium brown; trochanter whitish yellow; femur dark yellow or light yellowish brown; tibia medium to dark brown with basal 1/3 whitish-yellow; tibia moderately covered with whitish-yellow fine hairs (brightly shiny when illuminated) on posterior and outer surfaces of basal 2/5; tarsus dark brown. Hind leg: coxa light brown; trochanter whitish yellow; femur dark yellow with base whitish yellow and apical cap medium brown; tibia whitish yellow on basal 1/2 and medium brown on apical 1/2; tibia densely covered with whitish-yellow fine hairs (brightly shiny when illuminated) on posterior and outer surfaces of basal 3/4; basitarsus whitish yellow on basal 3/5 and medium brown on apical 2/5; 2nd tarsal segment whitish yellow on basal 1/2 and medium brown on apical 1/2; remaining tarsal segments medium brown; basitarsus (Fig. 6) narrow, nearly parallel-sided, ca.  $6.64\times$  as long as wide, and ca.  $0.60\times$  and ca.  $0.46\times$  as wide as greatest width of tibia and femur, respectively; calcipala ca.  $1.53\times$  as long as wide, and ca.  $0.84\times$  as wide as apical portion of basitarsus; pedisulcus well developed. All femora, tibiae and parts of tarsi densely covered with dark (and also pale), scale-like hairs. Claws (Fig. 7) each with large basal tooth, ca.  $0.54\times$  as long as claw. **Wing.** Length 1.9 mm. Costa with dark spinules as well as dark hairs except for most hairs near base yellow. Subcosta with several hairs but bare near apex. Hair tuft on stem vein mostly dark brown with a small patch of yellow hairs. Basal portion of radius fully haired. Basal cell absent. **Abdomen.** Basal scale pale light brown, with fringe of pale whitish yellow hairs. Dorsal surface of segment 2 yellowish-white with pale light brown tergite; dorsal surface of segments 3 and 4 pale light brown, sparsely and extensively mottled with dark reddish brown pigments, respectively; dorsal surface of segment 5 pale light brown, not mottled; tergites 3-5 small, quadrate and medium brown; dorsal surfaces of segments 6-9 medium brown to dark reddish brown; tergites 6-8 wide and shiny; dorsal surfaces of all segments sparsely or moderately covered with dark short hairs; ventral surfaces of segments 2-6 yellowish white but segment 6 sparsely mottled with dark reddish brown pigments; ventral surfaces of segments 7 and 8 dark reddish brown; sternal plate on segment 7 undeveloped. **Genitalia** (Figs. 8 and 9). Sternite 8 bare medially, with 28 or 29 short and long hairs on each side. Anterior gonapophyses nearly triangular, with round medioposterior corners, thin, membranous, covered densely with microsetae interspersed with 2 or 3 short setae; inner margins straight or sinuous, moderately sclerotized, and moderately

separated from each other. Genital fork of usual inverted-Y form; each arm strongly folded medially, appearing to have a short projection directed anteriorly. Paraproct produced ventrally, with 23-25 long hairs on ventral and lateral surfaces, and with 5 or 6 sensilla on inside surface. Cercus ca.  $0.5\times$  as long as wide, rounded posteriorly. Spermatheca oblong, ca.  $1.6\times$  as long as wide, well sclerotized except tube and small area near tubal juncture, and with many fissures on surface; internal setae seemingly absent; both accessory tubes slender, subequal in diameter to major one.

**Pupa.** Body length ca. 3.0 mm. **Head.** Integument yellowish, sparsely covered with round tubercles on frons; antennal sheath normal, with no spinous projections, and bare; face with a pair of simple long trichomes, and frons with 3 pairs of simple long trichomes; 3 frontal trichomes on each side arising close together, subequal in length, and almost equal to facial ones. **Thorax.** Integument yellowish, bare except small conical tubercles moderately covering dorsal surface of posterior 1/3 of thorax; integument with 3 pairs of simple long trichomes dorsally, 2 pairs of simple long trichomes anterolaterally, 1 pair of simple medium-long trichomes posterolaterally, and 3 pairs of simple medium-long trichomes ventrolaterally. Gill (Figs. 10 and 11) composed of 6 short, somewhat inflated, antler-like filaments, arranged in 3 pairs, arising from medium-long basal stalk with somewhat swollen, transparent organ ventrally at base; all filaments nearly transparent or pale yellow, subequal in thickness to one another but variable in length, i.e., 0.3-0.6 mm long, with inner filament of lower pair longest, and dorsal ones of upper and middle pairs shortest; total length of gill (from base of basal common stalk to apical tip of the longest filament) ca. 0.9 mm; cuticular surface of filaments smooth, with no annular ridges and tubercles. **Abdomen.** Terga 1 and 2 pale yellow, almost bare; tergum 1 with 1 simple, slender, medium-long seta on each side; tergum 2 with 1 simple, slender, medium-long seta and 5 short, somewhat spinous setae, submedially on each side; terga 3 and 4 pale and bare, each with 4 hooked spines and 1 short, somewhat spinous seta on each side; tergum 5 lacking spine-combs; terga 6-9 each with spine-combs in transverse row, together with comb-like groups of minute spines on each side (though spine-combs on tergum 9 much smaller than those on terga 6-8); tergum 9 with a pair of distinct plate-like terminal hooks having serrated outer margin (Fig. 12). Sternum 4 with 2 simple hooks (outer hook much stouter than inner one) and a few simple, slender, minute setae on each side; sternum 5 with a pair of bifid hooks (except inner hook on right side trifid) submedially, and a few simple, slender, short setae on each side; sternum 6 and 7 each with a pair of bifid inner and simple outer hooks (except inner hook on left side of sternum 6 trifid) somewhat

spaced from each other, and a few, simple, slender, short setae on each side. Each side of segment 9 with 3 grapnel-like hooklets. *Cocoon* (Fig. 13). Wall pocket-shaped, thinly but compactly woven without open spaces in webs, moderately extending ventrolaterally; anterior margin thickly woven; posterior 3/5 with floor roughly woven; individual threads indistinct; 2.8 mm long × 2.0 mm wide.

**Male and Mature larva.** Unknown.

**TYPE SPECIMENS.** Holotype female, reared from a pupa collected from Banaue, Ifugao Pvince, Luzon Island, Philippines, 2.VIII.1999, by H. Takaoka and A. Takaoka. Paratype: 1 pupa, same data as holotype.

**ECOLOGICAL NOTES.** The pupae of this species were collected from trailing grass leaves, together with *S. banauense* and *S. benquetense*, in a fast-flowing stream ca. 5 m wide, with water temperature of 22°C, exposed to the sun, at an altitude of ca. 1,100 m. This is one of the streams crossing the local road from Banaue Town eastward to Mayoyao Town.

**DISTRIBUTION.** Luzon Island, Philippines.

**ETYMOLOGY.** The species is named in honor of Prof. Lilian A. de las Llagas, Chair, Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines, Manila, in recognition of her contributions to medical parasitology and entomology.

**REMARKS.** Among the eight known species of the subgenus *Morops* reported from the Philippines (Takaoka, 1983), *S. banauense*, *S. ifugaoense* (both described from Banaue, Luzon Island) and *S. riverai* (described from Negros Island) are similar in the adult female to this new species by having the similar coloring of the hind tibiae and of the scale-like hairs on the scutum. However, the three species mentioned above are readily separated from this new species by the much wider frons (i.e., frons-head ratio 1.0: 4.6-5.0), the smaller sensory vesicle (i.e., relative length to the third maxillary palpal segment 0.22-0.28), and the mandible serrated only on inner margin; the latter two species also differ by having an ellipsoidal spermatheca, and numerous fine hairs (ca. 30) on the pleural membrane, respectively.

The female of *S. disneyi*, the only *Morops* species described from Sulawesi, Indonesia (Takaoka and Roberts,

1998), has some similarities to this new species by having the narrow frons and the mandible with serrations on both sides, but is easily separated by the smaller sensory vesicle (i.e., relative length to the third maxillary palpal segment, 0.27) and the much darker mid and hind tibiae.

The pupa of *S. liliana* sp. nov. is easily distinguished from all the eight *Morops* species from the Philippines (Takaoka, 1983) and all the other known *Morops* species from Papua New Guinea (Smart and Clifford, 1965; Takaoka, 1995), Australia (Colbo, 1976) and the Solomon Islands (Takaoka and Suzuki, 1995) by the antler-like gills.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Prof. Lilian A. de las Llagas, Chair, Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines, Manila, for her kind arrangement of our collection trip made in 1999, and reading the manuscript. This study was supported in part by the Grant-in-Aid of the Ministry of Education, Science, Sports and Culture, Japan (No. 11670246).

#### REFERENCES

- 1) Colbo, M.H. (1976): Four new species of *Simulium* Latreille (Diptera: Simuliidae) from Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.*, 15, 253-269
- 2) Crosskey, R.W. (1969): A re-classification of the Simuliidae (Diptera) of Africa and its islands. *Bull. Br. Mus. (Natur. Hist.) (Entomol.) Suppl.* 14, 1-195
- 3) Smart, J. and Clifford, E. A. (1965): Simuliidae (Diptera) of the territory of Papua and New Guinea. *Pacific Insects*, 7, 505-619
- 4) Takaoka, H. (1983): The Blackflies (Diptera: Simuliidae) of the Philippines. xi+199 pp., The Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Japan
- 5) Takaoka, H. (1995): The Simuliidae (Diptera) from Bougainville Island, Papua New Guinea. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 239-252
- 6) Takaoka, H. and Roberts, D.M. (1988): Notes on blackflies (Diptera: Simuliidae) from Sulawesi, Indonesia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, 16, 191-219
- 7) Takaoka, H. and Suzuki, H. (1995): The Simuliidae (Diptera) from the Solomon Islands, South Pacific. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 253-272

# PREVALENCE OF *TOXOPLASMA GONDII* AND OTHER INTESTINAL PARASITES IN CATS IN CHIBA PREFECTURE, JAPAN

HIDEKAZU HATA<sup>1</sup>, FUMIE AOSAI<sup>1</sup>, KAZUMI NOROSE<sup>1</sup>, MASASHI KOBAYASHI<sup>1</sup>,  
HYE-SEONG MUN<sup>1</sup>, MEI CHEN<sup>1</sup>, ISAO ITO<sup>2</sup>, NAOHISA ISEGAWA<sup>2</sup>,  
MICHIRO ISHIKAWA<sup>3</sup>, SHIGERU MORI<sup>4</sup> AND AKIHIKO YANO<sup>1</sup>

Received September 4, 2000 / Accepted October 23, 2000

**Abstract:** To survey the prevalence of *Toxoplasma gondii* and other parasites in cats using the sucrose flotation method, fecal samples were collected from stray cats in Chiba Prefecture (outside Chiba City) and Chiba City from December 1998 to December 1999. *T. gondii* oocysts were detected in only one of 326 cats examined (0.3%), while 13.4% of the cat sera (13/97) were serologically positive for anti-*T. gondii* antibodies by the latex agglutination test. However, the antibody titers in these sera were relatively low. The prevalence of protozoa infections in cats was higher in Chiba City area than outside Chiba City. The high prevalence of *S. erinaceieuropaei* infection in cats was found in the Chiba Prefectural area.

**Key Words:** *Toxoplasma gondii*, oocyst, cat, survey, *Isospora*, latex agglutination test

## INTRODUCTION

Many animals including humans are known as intermediate or paratenic hosts of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). However, of all the hosts of *T. gondii*, cats are the only definitive host that can excrete the environmentally resistant oocysts in feces. Thus, stray cats often contaminate the soil and the environment with excreted oocysts. Environmental contamination with oocysts and eggs of feline intestinal parasites continues to be a significant public health risk. Recently, human congenital toxoplasmosis abnormalities are gradually increased in Japan (Yano *et al.*, 1997). Furthermore, attention has been paid to *T. gondii* infections as a re-emerging parasitic disease. Although many epidemiological surveys of *T. gondii* infection in cats have been done, very little recent attention has been paid to this subject.

Furthermore, only a few reports are published concerning surveys for parasitic infections in cats in the Chiba area, Japan. This study was carried out to determine the prevalence of *T. gondii* infections, and other parasitic infections, in cats of the Chiba area.

## MATERIALS AND METHODS

**Stool examination:** *T. gondii* and other parasitic infections were detected by sucrose flotation technique for fecal samples of 326 cats. The samples were obtained from two different areas of Chiba; one was Chiba Prefecture Owners Guidance and Animal Protection Center in Chiba Prefecture, and the other was Chiba City Doubutsu-Hogo-Shidou Center from December 1998 to December 1999. Collected fecal samples were stored at 4°C until use. Flotation solution was prepared by adding 128 g granulated sucrose to 100 ml of water.

**Latex agglutination test:** Blood samples were collected from cats in Chiba Doubutsu-Hogo-Shido Center, Chiba City. Sera were separated from blood by centrifugation, and stored at -20°C until use. The antibody titers against *T. gondii* were measured by commercially available latex agglutination kits (Eiken-Kagaku, Co., Japan). Antibody titers of 1:34 or above were regarded as positive.

**Infection study of oocysts:** *T. gondii*-like oocysts isolated from cat feces were examined for their cyst formation abilities in mouse brain by infection study. The oocysts were cultured in 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution for 1 week. The sporulated oocysts were given orally to B10.A(4R) mice at various

1 Department of Parasitology, Chiba University School of Medicine, Inohana, Chiba 260-8670, Chiba, Japan

2 Laboratory Animal Center, Chiba University School of Medicine, Inohana, Chiba 260-8670, Chiba, Japan

3 Chiba City Doubutsu-Hogo-Shido Center, Chiba 263-0054, Japan

4 Chiba Prefecture Owners Guidance and Animal Protection Center, Tomisato, Chiba 286-0211, Chiba, Japan

Table 1 Prevalence of interestestinal parasites in cats in Chiba area examined by sucrose flotation technique

Parasites	Chiba City (Dec. 1998-Nov. 1999)		Chiba Prefecture (Jan. 1999-Dec. 1999)	
	Sample number	Sample number	Sample number	Sample number
	Positive/Total (%)	Positive/Total (%)	Positive/Total (%)	Positive/Total (%)
<i>Toxoplasma gondii</i>	1/126 (0.8)	0/200 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)
<i>Isospora rivolta</i>	24/126 (19.0)	7/200 (3.5)	7/200 (3.5)	7/200 (3.5)
<i>I. felis</i>	18/126 (14.3)	10/200 (5.0)	10/200 (5.0)	10/200 (5.0)
<i>Besnoitia wallacei</i>	0/126 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)
<i>Hammondia hammondi</i>	0/126 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)
<i>Cryptosporidium</i> sp.	0/126 (0)	1/200 (0.5)	1/200 (0.5)	1/200 (0.5)
<i>Giardia cati</i>	0/126 (0)	1/200 (0.5)	1/200 (0.5)	1/200 (0.5)
<i>Spirometra erinaceieuropaei</i>	1/126 (0.8)	43/200 (21.5)	43/200 (21.5)	43/200 (21.5)
<i>Toxocara cati</i>	43/126 (34.1)	65/200 (32.5)	65/200 (32.5)	65/200 (32.5)
<i>Trichuris campanula</i>	0/126 (0)	1/200 (0.5)	1/200 (0.5)	1/200 (0.5)
<i>Ancylostoma tubaeforme</i>	22/126 (17.5)	19/200 (9.5)	19/200 (9.5)	19/200 (9.5)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0/126 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)
<i>Pharyngostomum cordatum</i>	0/126 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)	0/200 (0)
Protozoa	43/126 (34.1)	19/200 (9.5)	19/200 (9.5)	19/200 (9.5)
Helminthes	66/126 (52.4)	128/200 (64.0)	128/200 (64.0)	128/200 (64.0)
Total positive cats	75/126 (59.5)	131/200 (65.5)	131/200 (65.5)	131/200 (65.5)

doses. B10. A (4R) strain is susceptible to *T. gondii* infection, and *T. gondii* easily from cysts in the mouse brain (Brown *et al.*, 1995). Eleven weeks after infection, cyst formation in the brain was examined microscopically, and anti-*T. gondii* antibody formation was also examined by latex agglutination testing.

## RESULTS

The cat feces were collected from Chiba Prefectural area and Chiba City area. As shown in Table 1, none of the cats tested excreted *T. gondii* oocysts in the Chiba Prefectural area. The prevalence of *Isospora rivolta* and *I. felis* was 3.5% (7/200) and 5.0% (10/200), respectively. Only 0.5% of the cats were infected with *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Toxocara cati*, *Spirometra erinaceieuropaei* and *Ancylostoma tubaeforme* infections were detected in 32.5% (65/200), 21.5% (43/200) and 9.5% (19/200) of cats, respectively. On the other hand, in Chiba City area, as shown in Table 1, one of 126 cats excreted *T. gondii* oocysts. The

prevalence of *I. rivolta* and *I. felis* was 19.0% (24/126) and 14.3% (18/126), respectively. *T. cati* and *A. tubaeforme* infections were detected in 34.1% (43/126) and 17.5% (22/126) of cats, respectively. However, *S. erinaceieuropaei* infection rate was low at 0.8% (1/126).

To identify the *T. gondii* species, oocysts with a size of 10-11  $\mu$ m in diameter from the cat feces were inoculated into mice and examined for cyst formation in the brain (*Hammondia hammondi* also excreted a similar size of oocysts with *T. gondii* as in cat feces. However, they do not from cysts in mouse brain; Tabros and Laarman, 1982). As shown in Table 2, in mice infected with 6 or 12 oocysts, cysts developed in the brain. However, mice infected with 30 or more oocysts died at 2 or 7 weeks after infection. High antibody titers against *T. gondii* were also detected by latex agglutination test (Table 2). Furthermore, when these oocysts were given orally to mice, they formed cysts in the brain (Table 2). Thus, these oocysts isolated from cat feces were identified as *T. gondii* oocysts.

Despite the results of the sucrose flotation methods,

Table 2 Infection study of *Toxoplasma gondii* oocysts found in cats by using mice

No. of oocysts infected	Latex titer* (for <i>T. gondii</i> )	Cysts in brain (No.)*
6	$\times 2,048$ (Survived)	+ (960)
12	$\times 4,096$ (Survived)	+ (2,640)
30	Died (7 weeks after infection)	ND
50	Died (2 weeks after infection)	ND
100	Died (2 weeks after infection)	ND
300	Died (2 weeks after infection)	ND

\* Eleven weeks after infection.

Table 3 Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibody in cats in Chiba City area by the latex agglutination test

	No. of cats examined	No. of positive cats					
		Anti- <i>T. gondii</i> antibody titer				Total	
		≤ ×16	×32	×64	≥ ×128	positive †	(%)
Adult	53	43	8	2	0	10	(18.9)
Kitten*	44	41	2	1	0	3	(6.8)
Total	97	84	10	3	0	13	(13.4)

\* Estimated age was 2 - 8 months.

† Antibody titers at ×32 or more were regarded as positive.

more than 60% of the cats in Chiba area were infected with any of the parasites. The prevalence of protozoan parasites in cats was higher in Chiba City than outside the city. On the other hand, the rate of *S. erinacei* infection was higher in Chiba Prefectural area. Seasonal differences in parasite infection rates were not found in each areas.

Latex agglutination testing to detect anti-*T. gondii* antibodies was also performed on the sera of 97 cats in Chiba City. As shown in Table 3, 13.4% of the cats tested positive. The positive rates were higher in adult cats (18.9%) than in kittens (6.8%).

## DISCUSSION

This study described the prevalence of *T. gondii* and other parasites in cats in Chiba Prefectural area and Chiba City area. *T. gondii* oocysts were isolated from one of 326 (0.3%) feline feces examined. It was reported that the prevalence of oocyst shedding in Japanese stray cats was low, at less than 2% (Ito *et al.*, 1974; Yamaura *et al.*, 1975; Shimura *et al.*, 1978). Since the period of oocyst excretion in the feces is so short, i.e. 1 to 3 weeks in experimentally infected cats (Dubey and Frenkel, 1974), the oocyst shedding cats may be found at such a low prevalence. The oocyst shedding in cats may be affected by several factors such as immune status, age and breed (Dubey, 1995).

These factors may influence the low oocyst shedding prevalence in cats in the Chiba area.

In Japanese stray cats, a low isolation rate of *T. gondii* oocysts in feces and a high positive rate of antibodies to *T. gondii* in sera have commonly been observed (Oikawa *et al.*, 1990). Also in this study, although only 0.3% of the cat was found to excrete oocysts, the seroprevalence by latex agglutination testing was 13.4%. The seroprevalence for *T. gondii* in Japanese stray cats shows a wide range of variations from 3 to 33% (Japan Small Animal Veterinary Medical Association, 1982). Furthermore, it was reported that the mean seroprevalence for *T. gondii* in Japanese stray cats was 13.9% (Japan Small Animal Veterinary Medical

Association, 1982). Even now, the seroprevalence for *T. gondii* in the Chiba area was almost the same as the mean prevalence observed 20 years ago in Japan. The level of antibody titers in Japanese stray cats was relatively high; 5.6% of the positive cats showed more than 1:2,048. In this study, however, none of the 13 serum positive samples showed higher titers than 1:128 by latex agglutination testing. Their titers were relatively low.

Although the prevalence of helminth infections, especially *S. erinacei* infection in cats, was higher in Chiba Prefectural area than Chiba City, the prevalence of protozoan infections was higher in Chiba City. The infection rates of *Isospora felis* and *I. rivolta* were higher, at 17% and 14%, than the rates seen in other areas of Japan; 8.7% and 0.4% in Tokyo (Ito *et al.*, 1974; Shimura *et al.*, 1978), 10% and 5% in Osaka (Iseki *et al.*, 1974), 6% and 3% in the Kanto area (Tanaka *et al.*, 1985), respectively. These high rates of *Isospora* infection might be caused by the closed living environment of cats in cities. One *T. gondii* oocyst-shedding cat was also detected in Chiba City area. Since *T. gondii*-infected cats excrete the oocysts up to 10<sup>8</sup>/g feces, and the oocysts can survive for a long time in soil (Jackson and Hatchison, 1989), this creates a threat to public health. Further surveys are necessary to examine whether the sand pits in Chiba City area are contaminated with *T. gondii* oocysts.

## REFERENCES

- 1) Brown, C.R., Hunter, C.A., Estes, R.G., Beckmann, E., Forman, J., David, C., Remington, J.S. and McLeod, R. (1995): Definitive identification of a gene that confers resistance against *Toxoplasma* cyst burden and encapsulation. *Immunol.*, 85, 419-428
- 2) Dubey, J.P. (1995): Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J. Parasitol.*, 81, 410-415
- 3) Dubey, J.P. and Frenkel, J.K. (1974): Immunity to feline Toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. *Vet. Pathol.*, 11, 350-379



- 4) Iseki, M., Tanabe, K., Uni, S., Sano, R. and Takada, S. (1974): A survey on *Toxoplasma* and other protozoal and helminthic parasites of adult stray cats in Osaka area. *Jpn. J. Parasitol.*, 23, 317-322
- 5) Ito, S., Tsunoda, K., Nishikawa, H. and Matsui, T. (1974): Small type of *Isospora bigemina*: Isolation from naturally infected cats and relations with *Toxoplasma* oocysts. *Nat. Ist. Anim. Hlth. Quart.*, 14, 137-144
- 6) Jackson, M.H. and Hatchison, W.M. (1989): The prevalence and source of *Toxoplasma* infection in the environment. *Adv. Parasitol.*, 28, 55-105
- 7) Japan Small Animal Veterinary Medical Association (1982): *Toxoplasma*, p 30., Japan Small Animal Vet. Med. Ass., Tokyo. (in Japanese)
- 8) Oikawa, H., Omata, Y., Kanda, M., Mikazuki, K., Yano, K. and Nakabayashi, T. (1990): Survey on *Toxoplasma* infection in stray cats in western area of Japan during a two-year period. *Jpn. J. Parasitol.*, 39, 462-467
- 9) Shimura, K., Ito, S., Tsunoda, K. and Matsui, T. (1978): Examination of coccidial oocysts in feces in kittens collected from Santama area of Tokyo. *Jpn. J. Parasitol.*, 27 (Suppl.), 61
- 10) Tados, W. and Laarman, J.J. (1982): Current concepts on the biology, evolution and taxonomy of tissue cyst-forming coccidia. *Adv. Parasitol.*, 20, 293-468
- 11) Tanaka, H., Watanabe, S. and Ogawa, Y. (1985): A survey on parasites in dogs and cats. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 771, 657-661
- 12) Yamaura, H., Shirasaka, R., Matsumoto, K. and Ishikawa, K. (1975): Isolation of *Toxoplasma gondii* oocyst from cat in Tokyo area. *J. Tokyo Woom. Med. Col.*, 45, 405-409
- 13) Yano, A., Aosai, F., Mun, H-S. and Norose, K. (1997): Congenital toxoplasmosis in Japan. In "Proceed. 3rd Korea-Japan Parasitologists Seminar", 22-27

## 論 考

## デング熱とデングウイルス

## —熱帯医学への挑戦—

堀 田 進

2000年1月22日受付/2000年11月10日受理

## 序

デング熱は広く熱帯, 亜熱帯地域に蔓延して多くの患者を出し, 数世紀前から医学上, 公衆衛生学上の重要な疾患として, 一般民衆の間でも広く認識されてきた。特に, 東南アジア・西太平洋地域・インド亜大陸などが多発地となっている。

1941(昭和16)年, 太平洋戦争が勃発するやいなや, その主戦場がデング熱の多発地帯であり, さらに作戦に伴う大規模な人員の移動があったために, 本症が爆発的に発生した。特に, 戦争の直接の当事者であった日本およびアメリカ合衆国は, この被害を受けることが大きく, とりわけ多数の患者が軍隊で発生した。さらに日本国内も, その影響を受けるに至った。すなわち, 1942(昭和17)年から1944(昭和19)年にわたって, 日本国内のいくつかの都市が, 大きな流行に見舞われた。この流行は, 温帯地域に発生したものとしては, 世界稀に見る大規模なもので, 疫学史上に記録されるべき出来事であった。

大戦終了後, 本症が一時減少したかに見えた時期があった。しかし, 最近再びその勢いを盛り返しつつある。以前からの本症流行地帯における患者数は, さらに増加の傾向を示し, その上, 従来あまり流行の見られなかった地域, たとえば中南米, 中国南部などにも波及拡大している。これは世界的な交通量の増加, 自然的ならびに人為的な環境の変化, 特に急激な都市化(urbanization)が有力な原因と考えられる。本症は比較的軽症で致命率も低い疾患と過去に見なされてきた。しかし近來のデング熱について注目すべき重要な点は, その症状の重篤化が見られるようになり, 高い致命率をもたらす危険な病気となってきたことである。

日本には, 幸いにデング熱は常任せず, 過去においてもその流行は, 実際上前記の流行例のみである。しかし, 日本が本症に襲われる今後の可能性は, 決して少ないとは言えない。後述するように, デング熱媒介蚊は日本国内に生息している。また交通の急激な発達, 世界的規模での人と物との動きを年々増大させている。何らかの契機があれば, 日本国内に本症が侵入して, 流行を引き起こす可能性は現在も皆無ではない。当然のことながら, 流行地の旅行者または駐在者には, 本症罹患の恐れは常時つきまといるのである。さらに我々が, 国際的視野に立つならば,

流行を拡大しつつある本症に対し学術的な究明を進め, あるいはその制圧に努力することは, 本邦のウイルス学者にとって, 避けて通れない責務と思われる。このような状況を踏まえ, デング熱の歴史と現状をまとめ, さらに将来への展望の一端に触れる目的で本論文を執筆した。後述するように, 第二次世界大戦は単にデング熱の大流行をもたらしたのみならず, 本症研究の歴史に新しい段階を画したものであった。したがって, 本論文の記述内容は主として大戦後, 今日までの丁度半世紀にわたる出来事や成果を主な対象にした。顧みれば, 今から50年前はデング熱に関する知見は極めて乏しかったし, しかもウイルス学それ自体が未熟な段階にあった。以後, ウイルス学の進歩に伴って, デング熱の研究も必然的に大きな変容を迫られて今日に至っている。このような意味で, 過去50年間のデング熱研究の歩みは, とりもなおさずウイルス学の進歩そのものを映す鏡であると言うこともできよう。本論文においては, そのような観点に立って, デング熱研究発展の道筋を辿って見たいと考えた。しかし一面, 本論文ではかなり古い文献や成績をも少なからず紹介することを意図した。言うまでもなく科学における成果は, 長年にわたって積み重ねられた数々の知見の上に築かれるものである。したがって, 古いものにも当然与えられるべき学問的意義があるはずである。また古いものも新しい視点から見直すときに, 重要なヒントを提供する可能性を秘めていることもある。このような意味を含めて, 一貫した歴史の中でデング熱研究を捕らえてみたいというのが, ささやかながら本論文の狙いである。

過去の文献の多くは, これを既刊の成書または総説に譲ることとし, それらは巻末にまとめられている。最近 Kuno および共同研究者は, デング熱およびデング様疾患の広範な文献リストを刊行した(Kuno and Flores, 1982; Kuno, 1993)。これは文献探索上, 極めて有用で, 研究上広く活用されるべきものである。

最後に, 本論文の標題について一言述べておきたい。以前は「デング熱」(dengue fever) という名称が広く用いられたが, 第二次大戦後, 単に「デング」(dengue) と呼ばれることが一般的傾向となった。しかし, 「デング熱」は「熱性疾患」であることを端的に表記する意味で, 甚だ適切な響きを持っているように思える。よって臨床的, 疫学

的問題を論じる場合には「デング熱」を用い、これに対して、ウイルスの基礎的問題を記述する際には、「デングウイルス」(dengue virus)を使用することにした。もっとも、文脈の都合などで、必ずしも一貫しない部分も少なからずあるが、あえてこの標題を選んだことにつき、一般のご理解を願う次第である。また、本症は實際上「熱帯病」のひとつであり、したがって本質的に「熱帯医学」の重要な分野として考究されるべきである。このような考えに基づいて副題を付した。

## 第1章 歴史的概観

### I. デング熱の全体像

デング熱はかなり古くから、一般民衆に認識されていたようである。それらを立ち入って論じることは、医学史上興味ある課題であろうが、本論文では特に深く言及することはしない。しかし、研究上重要な意味を持つと考えられる知見のいくつかを、記述することとする。

デング熱に関する最古の医学論文は、Bylon (1780)のそれであるというのが、ほぼ一致した見解である。これは、1779年にインドネシアのバタビア(現在のジャカルタ)で発生した本症を記録したものである。以後1981年までの約200年間に、3,000編以上の医学論文が発表されている。Kuno and Flores (1982)の文献集を参照して、発表論文を年代別に並べてみると(表1)のごとくなる。むろん1981年以後には、これ以外に多数の論文が発表されている。

表1 デング熱およびデング様疾患に関する論文の年代別分類

期間	論文数(%)	主要な歴史的事項
20年区切り		
1780-99	3	インドネシア、エジプトにおけるデング熱流行の記載
1800-19	1	
1820-39	26 (0.8)	
1840-59	22 (0.7)	
1860-79	60 (1.9)	近代細菌学の誕生
1880-99	115(3.7)	
10年区切り		
1900-09	89 (2.8)	デング熱媒介蚊の発見/デング熱ウイルス病原説の提唱
1910-19	111(3.5)	
1920-29	142(4.5)	デング熱温帯地方に侵入、大流行
1930-39	124(3.9)	
1940-49	523(17.0)	第二次世界大戦勃発、東南アジア/西太平洋地域にデング熱大流行/デングウイルスの分離成功
1950-59	186(5.9)	デング出血熱・ショック症候群の出現
1960-69	557(18.0)	デングウイルスの基礎的研究の進展
1970-79	946(30.0)	数種の「ウイルス出血熱」の認識
1980-81	238(7.6)	デング熱流行の世界的拡大/ウイルスの分子生物学的研究の進展があり、現在に至っている
計	3,143 (100.0)	

概観すると、19世紀の末期、近代細菌学の誕生と共にデング熱の研究も進展し、それに応じて論文数が急速に増加した。

20世紀に入ると、デング熱の蚊媒介説、ウイルス病原説が相次いで提唱され、またさらに交通の発達に伴い、温帯地方にも本症の大流行が起こったことに触発されて、論文数も引き続き増加の傾向を辿った。

ついで第二次世界大戦が勃発すると、その主戦場の一つであった東南アジア、西太平洋地域に本症が爆発的に流行したため、一挙に研究活動も高まり、それにつれて論文数も飛躍的に増加した。なおこの時期、デングウイルスのマウス伝達に成功し、実験的研究に供し得るウイルス株が獲得された。そのために基礎的研究の進展に大きなはずみがつけられた。

大戦終了後、一時的に研究が下火になった状況が、論文数の減少から窺える。しかし間もなく、「デング出血熱・ショック症候群」(dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome)が認識されたことを契機として、新たな関心が盛り上がり、論文数の増加をもたらしている。

1960年代以降、ウイルス学全般の発展と共に、デング熱研究も新しい時代に入り、デングウイルスの基礎的性状の解明、それに基づくデング熱の血清学的診断技術や、ワクチン開発の研究などに重点が移った。ちなみにこの時期に、デング出血熱に関連して、「ウイルス性出血熱」(viral hemorrhagic fevers)の概念が誕生している。世界的な交通規模の拡大、各国家の社会的、経済的な変動(たとえば、急速な都市化と人口集中傾向)によってデング熱流行の地域は拡大し、患者数は年々増加の勢いにある。しかも、従来あまり発生の見られなかった中南米諸国、中国南部にも大きな流行がもたらされている。

1980-1990年代に入ると、数万、数十万、時には百万以上の症例を記録する流行が稀でなくなってきた。調査洩れの患者数を考慮すると、全世界の年間患者数は1億に達する場合すらあり得ると推定されている(Halstead, 1988; Monath, 1994)。

したがって、地球規模での疫学研究が盛んになってきた。さらに分子生物学や分子遺伝学の進歩に応じて、デング熱研究も質量共に、急速な進展と変貌をとげつつ現在に至っている。

### 名称と定義

デング熱は、高熱・頭痛・関節痛・その他身体各所の痛み、並びに発疹を主要な臨床症状とし、通常極めて急激に発症する疾患である。時に爆発的な大流行を起こすことが少なくない。このような特異な、しかも容易に認識される特徴を備えているため、一般の人々にも古くから広く知られてきた。しかし、病原体がウイルスであることが確定されたのは、かなり時代の降った20世紀初頭である。

このように広範囲に認識された結果、本症は文献上また

は口伝上、種々雑多な名称で呼ばれてきた。現在では、「デング」(dengue)の名称が世界的に受け入れられている(脚注1)。その語源は、通説によれば、スペイン語の dengüero にあるとされる。これは、英語の dandy に相当し、本症患者が特有の身体の痛みのために、気取ったような身のこなしを見せることに由来すると考えられている。

しかしこれに落ち着くまでには、さまざまな名称が与えられた。いま Hirsch (1883), Nothnagel (1905), Siler *et al.* (1926), Lumley and Taylor (1942), van Rooyen and Rhodes (1948), Carey (1971) などの記載を引用しつつ、それらを紹介すると次のようになる。

(1) まず、dandy と同じ発想から「ポルカ熱」(polka fever), 「パントマイム熱」(pantomime fever) と呼ばれたことがある。いずれも身体の痛みに伴う特異な身のこなしから、舞踏を連想したわけである。

(2) しかし一方、dengue の語源はスペイン語の dengüero ではなく、アフリカのスワヒリ語の「dinga」または「dyenga」、あるいはインド語の「dangue」であるという説もある。これらの語はいずれも「打撃」、「強打」の意味を含み、本症の急激な発症と強烈な痛みに関連するものと思われる。同様な発想から、「coup-de-barre」(棒の打撃)、「trancazo」(切断)という語も残っている。

(3) 関節痛、その他身体各所の痛みに関連するものとしては、「abou-abous」, 「abou-rekabe」, 「abou-rabaka」, 「abudobus」[以上アラビア, 北アフリカの語, 「male de genoux」, 「Knieübel」などが記録上残っている。いずれも「膝の痛み」ないし、膝の「病気」の意味が含まれ、関節痛との関連を示すものであろう。

このカテゴリーに属する名称で、古くから用いられ現在なお命脈を保っているのは、英語の「break-bone fever (破骨熱)」や「broken wing fever (破腕熱)」である。

Rigau-Pérez (1998) によれば、プエルトリコ、サンフェンの陸軍病院に勤務した医師 José Sabater が、1771年に“quebranta huesos”(英語に訳せば、break-bone)という名称の熱性疾患を記載しており、その後1780年にフィラデルフィアに発生した熱病が“breakbone”と呼ばれた。また1801年にスペインの女王 Luisa が、“dengue”と呼ばれる熱病に罹ったという記録が存在するという。そうだとすれば、主にスペイン系の人々を通して、これらの名称がカリブ海、北米、スペインにかけて認識されていたことになる。

オランダ語の「knockel koorts」(英語で表現すれば knuckle fever 関節熱、または ankle fever くるぶし熱)もよく知られている。ちなみに現在のところ、デング熱に関する医学論文として、世界最古のものともみなされている報告(Bylon, 1780)は、オランダ語で書かれたインドネシア、バタビア(現在のジャカルタ)の流行に関するものであるが、これには knockel koorts が用いられている。ただし、この

論文は歴史上有名であるだけに、その記載が果たして真のデング熱であるかどうかについては、現在もお批判や異論が提出されている。この点に関しては、後に改めて論じることにする。

(4) 特有の発疹にちなんだ名称も、多く附せられた。たとえば、「fièvre rouge」, 「calentura roja」, 「rosalia」, 「colorado」, 「giraffe」, 「bouquet」などがそれで、いずれも「赤」「まだら模様」, 「花束」という意味が含まれている。なお、本症を「bucket」(バケツ, 手桶)と呼んだことが文献に記載されている。何故この名称がつけられたのかは、今日なお説明が困難であるが、一説によれば bouquet (花束)を誤ったのであろうという。

(5) デング熱は、通常その致死率が比較的低いけれども、回復期に強度の疲労衰弱の残る例が少なくない。そのため「fièvre courbaturale (疲労熱)」, 「breakheart-fever (破心熱)」などの名称が残っている。

(6) 「Bilious remittant fever (胆汁性弛張熱)」という名称が、かなり広く用いられた時期もあった。これは、二峰性(馬鞍状)の熱型および黄疸、その他肝障害を暗示する意味を持っている。この名称は、確かにデング熱の臨床的特徴の一端をとらえてはいるが、しかし反面、類似の他種疾患、たとえば黄熱やワイル病などと混同した可能性も否定できないように思える。

デング熱と、臨床上類似の疾患との同時発生は、むろん起こり得ることで、現在でもデング熱とレプトスピラ症との併存が報告されている(Levett *et al.*, 2000)。

(7) デング熱が、特殊な蚊によって媒介されることは、20世紀に入って初めて明かにされるが、それ以前にも、本症が特定の季節に多発するという事実は、経験上よく知られていたようである。したがって、季節にちなんだ名称がつけられた場合もある。たとえば「date fever (ナツメヤシ熱)」(ナツメヤシの収穫期に発生する)、「south wind fever (南風熱)」(南の風が吹く頃に起こる)などが、いみじくもそれを表現している。

(8) 医術の進歩と共に、症状の把握や記述が次第に正確度を増してくるにつれて、下記のごとき名称の附されたことが、文献的に明らかになっている。

Exanthesis arthrosia  
Exanthesis rosalia  
Epidemic inflammatory fever  
Epidemic eruptive fever  
Eruptive/exanthematous articular fever  
Eruptive rheumatic fever  
Scarlatina mitis  
Scarlatina rheumatica

以上のような雑多な名称が与えられてきたという事実は、逆に言えば、デング熱の定義や診断が、それだけ混乱して

(脚注1) 本症の名称として従来は「デング熱」(dengue fever)が用いられたが、現在は「熱」(fever)を省略して、「デング」(dengue)に統一されている。しかし本論文ではあえて、「デング熱」を用いた。序文において述べたとおり、これによって「熱性疾患」(febrile disease)という概念が、直感的に伝えられるように思えるからである。したがって、原則として臨床的、疫学的の記述では「デング熱」を用い、一方ウイルスに関する基礎的な記述には、「デング」を使用した。ただし、かような用語の区別は、本論文のみに関することをお断りしておきたい。

いたことを意味するのであろう。したがって、その本態の把握も時代により、地域によって、かなり相異していたと言えよう。むしろウイルス学的知見が確立した後は、この種の混乱は除去された。

(9) 以上はいわゆる「西方医学」における記述であるが、中国医学にも Dengue 熱様疾患の記載があり、しかも年代的には上記のものより、遙か古くにさかのぼる。

晋の時代(西暦265-420年)に著された医書「肘後備急方」(著者・葛洪)、および少し降って隋の時代に刊行された「諸病源候論」(著者・巢元方、大業6年、西暦610年刊)に「溪毒」の記述がある。それによれば、発熱、頭痛、四肢・関節痛、眼窩後痛(postorbital pain)、発疹(前駆疹および後期発疹)を認め、症例によっては下血、歯肉の出血があり、出血を来した場合は、死に至ることが多いと書かれている。本症は「水毒」とも称され、また「飛蠱」という語の記載があることから、湿潤の土地、飛翔する昆虫に関係があるとの認識が持たれていたと考えられる。無論これだけで断定的な結論は出せないが、現在中国南部地域に Dengue 熱が多発している状況からみて、これらの記述が Dengue 熱、ないし Dengue 出血熱に関するものではないかと推論しても、大きな誤りはないように思える[以上、野淵(1979)の論説による。なお、後章「Dengue 熱の臨床」を参照のこと]。

ちなみに、20世紀に入って間もなく、Dengue 熱の病原体はウイルスであることが証明された。さらに第二次世界大戦を契機として、病原ウイルスの分離が成功した。それによって、Dengue 熱の本体は確定され、ウイルスの性状の解明・診断技術の開発などが急速に進展した。したがって、近代感染症学の概念からすれば、「Dengue 熱は、Dengue ウイルスによって引き起こされる疾患である」と定義される。言い換えれば、ある疾患が Dengue 熱であると決定するためには、それが Dengue ウイルスと直接的な関係にあることが証明されなければならない。判りきったことであるが、極めて当然な論理であり、これによってすべての問題点が、科学的に整理されるのである。

## II. Dengue ウイルスの全体像

### Dengue ウイルスの分類学上の位置及び類縁関係

Dengue ウイルス(以下、DENV と略記)の大まかな全体像を把握するために、本ウイルスの分類学上の位置を考えてみることにする。

ウイルスは、細菌(bacterium)や真菌(fungus)のそれに比べて比較的新しい研究対象である。その分類形式(system of virus taxonomy)は、ウイルス学の進歩と共に絶えず変遷を重ねてきているのが現状である。したがって、現在提案されているものが、必ずしも最終的な結論とは考

え難い。新しい知見が将来さらに加わると共に、絶えず変更を余儀なくされてゆくであろう。

DENV もその例に洩れず、分類上の位置や命名が年代によって異なっている。そのために、過去の文献をひもとく場合、若干の混乱や誤解の生ずる恐れがある。この点を明確にするために、分類の歴史的経過を概説して、理解に資することとしたい。

### アルボウイルス(arbovirus)の定義

DENV が「節足動物媒介性ウイルス」(arthropod-borne virus; arbovirus, アルボウイルスと略記)の一種であることは、古くから確立された基本概念であり、現在もおお一般に受け入れられている(脚注2)。

アルボウイルスとして認識される条件、いわばアルボウイルスの定義は、次のような点にあると考えられている。

- (1) 古典的な意味において、「ウイルス」である。すなわち、細菌を通過させない濾過器を通過する、人工培地の上で増殖できない、光学顕微鏡で見ることができないなどの性質を持つ。
- (2) 特定の種の節足動物(蚊またはダニ)の細胞内において、生存増殖できる。ウイルスは、それに感染した宿主(原則として、ヒトを含む温血脊椎動物)の血液を吸った節足動物体内で増殖する。節足動物の唾液腺の細胞内でさらに増殖して、その空胞(vacuole)内に蓄積して、その節足動物が新しい宿主を刺咬する際に、病原体の感染を広げてゆく。
- (3) その前提条件として、ウイルスは、ある時期に必ず感染宿主の血液に出現する。すなわち、感染宿主においてウイルス血症(viremia)の出現する時期が必ず存在する。
- (4) 節足動物が、いったんアルボウイルスを体内に取り込むと、通常の場合、それを終生保有すると言われている。特殊な条件下では、節足動物の卵がウイルスに感染することによって、その子孫に伝えられることがある(経卵巣伝達, transovarial transmission)。

### 黄熱と Dengue 熱のアルボウイルスとしての認識

以上のような限定を踏まえた上で、アルボウイルスとして認識された第1号は、黄熱(yellow fever)のウイルスであり、Dengue ウイルスはそれに次ぐ第2号である。したがって、黄熱ウイルスと Dengue ウイルスを例にとり、分類と命名の変遷を辿ってみることにする。黄熱については、1900年より1902年にかけて、Walter Reed を長とするアメリカ陸軍軍医団研究班が、中米キューバで本症の研究を行った。その結果、下記の事実が明らかとなった。

- (1) 黄熱の病原体は、細菌濾過器を通過する微生物、いわゆるウイルスであること
- (2) それは発病期の患者の血液に含まれていること

(脚注2) arbovirus は、以前に arborvirus と記載されたことがあった。しかし「arbor」はラテン語の「樹木」を意味するので、これでは樹木(植物)に感染するウイルスと誤解される恐れが生じたため、r を除き、arbovirus と定められた。

(3) ウイルスは、特定種の蚊、*Aedes aegypti* (ネッタシマカ)によって媒介されること{Reed *et al.*, 1900, 1901, 1902; および Strode (ed.), 1951を参照}

これは、アルボウイルスをはじめ近代微生物学・感染症学に登場させた業績であり、現在もお不滅の意義を持っている。

多分これに触発されたためであろうか、直ちにデング熱に関する研究が、他のグループの研究者によって進められた。まず Graham (1903) は、蚊がデング熱の媒介者であることを推定した。続いて、媒介蚊の同定が試みられ、黄熱媒介者と同種の *Ae. aegypti* と、さらにもう一つ *Ae. albopictus* (ヒトスジシマカ) が確定された (ネッタシマカについては, Bancroft, 1906; Cleland *et al.*, 1916, 1919; Siler *et al.*, 1926; Simmons *et al.*, 1931; ヒトスジシマカについては, 小泉ら, 1916; Snijders *et al.*, 1931; Simmons *et al.*, 1931)。このうち, Simmons らの研究は, その実験の規模が広範であること, 実験設定の条件が厳密であることから, この種の研究の模範的な実例と評価されている。ヒトスジシマカは, 日本国内にも現在でも定着生息していることは, 注目に値する。そのデングウイルス媒介能を初めて確認した小泉らの台湾における研究は, デング熱の歴史の上で, 輝かしい一歩を印したものとえよう。

ちなみに, 第二次大戦後に, *Ae. scutellaris* (Mackerras, 1946) および *A. polynesiensis* Marks (Rosen *et al.*, 1954) が, 新たにデングウイルス媒介蚊として追加された。さらに最近, Savage ら (1998) は, ヤップ島を中心としたミクロネシアのデング熱流行において, *Ae. hensilli* が伝播の主役を演じたことを見出し, これが新しい媒介者であろうと述べている。このように, デングウイルス媒介蚊はすべて *Aedes* (ヤブカ) 属に限られている (脚注3)。

黄熱とデング熱とが, 媒介蚊を共通に持つという事実は, 両ウイルス種が近縁関係にあるのではないかという可能性を強く示唆するものであり, 初期の研究者の多くはそのように考えていたようである。この推察は, その後における研究, 特にウイルス粒子の性状の究明, 黄熱とデング熱の病理学的所見の対比などから科学的にも裏付けられた。これについての詳細は後章に詳細に述べる。

上記の研究に先だって, Ashburn and Craig (1907) はデング熱の病原体が, 濾過性ウイルスであることを証明した。

### 新しいアルボウイルスの発見

これらの知見以降, 世界各地で新しいアルボウイルス, ならびにそれによって起こされる疾患が次々と見出された。1945年の第二次世界大戦終結時までに, アフリカでウェストナイル (WN と略記, 以下同じ) アジアで日本脳炎 (JE), 北米でセントルイス脳炎 (SLE), 東部型ウマ脳炎 (EEE), 西部型ウマ脳炎 (WEE), 南米でベネズエラ脳炎 (VEE), 極東シベリア地方でロシア春夏脳炎 (RSSE) などのウイルスの発見・同定が相次いだ。

さらに第二次大戦後, 疫学的研究が世界的規模で行われるようになり, これにウイルス学的技術の進歩が加わって, アルボウイルス感染症の認識は著しく拡大した。またヒトの感染症のみならず, 各種動物の感染症, および感染症とは一見無関係に, 節足動物そのものから直接にウイルスを分離する試みが強力に進められたことから, アルボウイルスの種類は急速に増加した。その結果, 黄熱ウイルスの発見から半世紀を経た1959年代に, 早くも100種以上のいわゆる「アルボウイルス」が知られるに至った。

### アルボウイルスのA群とB群

そこで, これらを整理する必要に迫られることになった。そのために, 当時開発されていた新技術の赤血球凝集抑制反応 (hemagglutination-inhibition, HI と略記) を利用して, 免疫反応を基準としてアルボウイルスを区分することが提唱されるに至った。すなわち,

A 群アルボウイルス (Group A arbovirus)

B 群アルボウイルス (Group B arbovirus)

の2群がそれである。この一連の研究の上で, ロックフェラー研究所のウイルス学者, とりわけ Casals を中心とするグループの貢献が大きい (Casals and Brown, 1954; Clarke and Casals, 1958; Casals, 1968)。それによれば, たとえば上記のウイルスのうち, ウマ脳炎 (東部型・西部型・ベネズエラ) ウイルスは A 群に, また黄熱・デング熱・ウェストナイル・日本脳炎・セントルイス脳炎・ロシア春夏脳炎などのウイルスは B 群にそれぞれ区分された。

### Togaviridae と Flaviviridae の創設

ところが, その後アルボウイルスの種類は, 飛躍的に増加した。その理由は, ヒトや動物の感染症からだけでなく (これはむしろ少数で), 野外で採取された節足動物から, 続々と新しいウイルスが分離されてきたためである。これ

(脚注3) 実験的には, 他属の蚊もその体内で, DENV の増殖を許すことは知られている。たとえば, *Culex quinquefasciatus* では, 胸腔内接種 (intrathoracic inoculation) による DENV の感染が可能であった。しかし, その感染率や蚊1羽当たりのウイルス増殖度は, *Ae. aegypti* のそれと比べると遥かに低く, かつ経口感染 (oral infection) によるウイルスの増殖は不可能であった (Vazeille-Falcoz *et al.*, 1999)。従って, 野外においてこの種の蚊が DENV を媒介する可能性は, 事実上無いと考えてよいであろう。

(脚注4) このような観点からすれば, 「アルボウイルス」という概念は, かなり曖昧になってきたと言わざるを得ない。しかし, これに含まれるウイルスのあるものは, 最も古くから知られており (例えば, 黄熱・デング熱のウイルス), この名称はウイルス学の歴史の内でも長い命脈を保ってきた。それゆえに, これを完全に無視し消滅させることは, 必ずしも妥当ではないという考えが主張された。アメリカ節足動物媒介性ウイルス委員会 (American Committee on Arthropod-Borne Viruses) は, この名称を一応存続させることとして, これに含まれるウイルスのカatalogを作成し数年毎に改訂している。これらのウイルスは, 節足動物の体内で生存し, それから直接分離されるという共通性を持っており, この事実を根拠としてひとまとめにされているのである。1996年12月現在, 537種のウイルスが登録されている。これは, 現在一つのグループに所属するウイルスの数としては, 最大のものとなっている。ただしこの内には, 上述したように多くの異種のウイルスが含まれているので, それらの厳密な区別を認識しておかねばならない。

らのウイルスを詳細に調べてみると、本来の定義上のアルボウイルスのみならず、他の種類のもの、例えば現在の知見からみて、*Arenavirus*, *Bunyavirus*, *Orbivirus*, *Phlebovirus*, *Rhabdovirus*, *Coronavirus*, *Herpesvirus* と考えられるような雑多なウイルスが含まれることが判明した。アルボウイルスの定義が全く不明瞭になってきたわけである (脚注4)。

ここにおいて、分類をより厳密、明確にする必要が生じてきた。よって、本来の A 群アルボウイルス、B 群アルボウイルスのみを包括して *Togavirus* とし、その内 A 群ウイルスを *Alphavirus*、B 群ウイルスを *Flavivirus* と命名することが提案された (脚注5)。

しかしその後、ウイルス粒子の性状を解析する分子生物学的、分子遺伝学的技術が急速に進歩し、多くの知見が蓄積されるに及んで、さらに新たな区分・命名を迫られることになった。すなわち、Family (科) として *Togaviridae* と *Flaviviridae* を創設し、*Alphavirus* は前者に、*Flavivirus* は後者に属させることとした。この他に、類縁関係にあると考えられるウイルス種が、それぞれの科に組み入れられた。Murphy *et al.* (1995) は、次の分類を提唱している。

#### Murphy *et al.* (1995) の提案

Family	Genus	代表的 Species*
<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	チクングニア ウマ脳炎(東部型, 西部型, ベネズエラ) シンドビス Semliki Forest
		<i>Rubivirus</i> 風疹
<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	(蚊媒介性) 黄熱 デング熱 ウエストナイル 日本脳炎 セントルイス脳炎 Murray Valley 脳炎 (ダニ媒介性) ロシア春夏脳炎 Kyasanur 森林熱
		<i>Pestivirus</i> ウシ下痢症
		"Hepatitis C-like virus"

\*: 「ウイルス」の文字を省略する。

その後、Pringle (1999) は、下記の分類を提案した。すなわち、Cavanagh (1997) によって新たに設けられた Order *Nidovirales* の内に、*Togaviridae* と *Flaviviridae* の2つの Family を含め、また C 型肝炎ウイルスに新しい Genus 名、*Hepacivirus* を与え、*Flaviviridae* に含めた。デングウイルスは、黄熱ウイルスと共に Genus *Flavivirus* に含ま

れる。

#### Pringle (1999) の提案

Order	Family	Genus	Type Species
<i>Nidovirales</i>	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Sindbis virus
		<i>Rubivirus</i>	Rubella virus
	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	Yellow fever virus
		<i>Pestivirus</i>	Bovine viral diarrhea virus
		<i>Hepacivirus</i>	Hepatitis C virus

nido: ラテン語の *nidus*, 英語の *nest* にあたる  
nested set arrangement of subgenomic mRNA の意を表す。

#### *Flavivirus* の特性

上記の分類の主要な理論的根拠となったものは、ウイルス粒子の分子生物学的特性である。デングウイルスを含む *Flavivirus* は、概ね下記の特性をもっている (デングウイルスの固有な性状は、後章で記述する)。

- (1) 電子顕微鏡的観察では、成熟したウイルスは直径 40~50 nm の球形粒子で、表面に約 6 nm の長さの突起を持っている。内部の core (核) は直径 30 nm である。
- (2) ウイルスの核酸は RNA 型、線状 (linear) で、positive sense, single-strand, 構成ヌクレオチドの数は約 10,000 塩基である (現在報告されている限りのデータによれば、10,976 から 10,488 の間にある)。3' 末端に、ポリアデニル酸からなるポリ(A)鎖 (poly A tail) を持たない (これが、*Alphavirus* と異なる主要点の一つである)。5' 末端から始まって、C, prM, M, E (以上 "structural" [構造タンパク質]), NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 (以上 "non-structural" [非構造タンパク質]) の区分があり、それぞれウイルス粒子の構成成分をコードしている。
- (3) 感染宿主細胞内におけるウイルス粒子成熟の最終段階は、細胞質内の空胞 (vacuole) 内において行われる。細胞膜からの出芽 (budding) の現象は原則として認められない。この点で、budding を例外なく示す *Alphavirus* と明らかに異なっている。
- (4) 感染宿主細胞から放出された (extracellular) 成熟粒子は、タンパク質、脂質、炭水化物を有する。タンパク質は、"envelope" を構成する E、膜を構成する M、および核酸に結合する C から成る。脂質は、感染宿主細胞から由来したものである。炭水化物は、タンパク質、脂質と結合してそれぞれ糖タンパク質 (glycoprotein)、糖脂質 (glycolipid) を形成する。
- (5) ウイルスは、温血脊椎動物の赤血球に吸着して、これを凝集させる (赤血球凝集反応, hemagglutination)。

(脚注5) Toga は、古代ローマで広く民衆に着用されていた外套を意味する語で、これらのウイルスが、いずれも粒子表層に明瞭な envelope を有することから名付けられたのである。Alpha はむしろ A (group A) を意味する。Flavi はラテン語で黄色を意味し、アルボウイルスとして最初に確認された黄熱 (yellow fever) にちなんだ名称である。

この反応の至適条件（例えば、赤血球を提供する動物種、反応培養液の pH）などは、各ウイルスによって異なる。

- (6) 当然のことながら、特定種の吸血性節足動物、および温血脊椎動物の体内でよく増殖する。おのおのウイルス種について、感受性のある節足動物種が決まっている。それら動物の細胞の体外培養においても良好に増殖する。
- (7) 感染宿主に特異抗体を産出させる能力、すなわち特異抗原性をウイルスは有する。これには、E タンパク質が主要な関係を持つと考えられている。

以上が *Flavivirus*、ひいては Dengue ウイルス分類の基本である。前述したように、この分類も今後の研究によっては改訂されることもありうる。このようなことは、学問の進歩から見れば、むしろ当然であろう。しかし現在のところ、上述の概念および分類が概ね世界的な支持を得ている。

## 第2章 日本本土の Dengue 熱流行

前述したように、Dengue 熱および Dengue ウイルスの研究は、第二次世界大戦を契機として、新しい段階に入ったと考えられる。この時期に、Dengue ウイルスが初めて分離された。むしろそれ以前にも、多くの貴重なデータが積み重ねられていたが、近代ウイルス学の視点から Dengue 熱・Dengue ウイルスが研究対象となったのは、1942-1943年以降であると言っても大きな誤りではないであろう。この年、日本国内およびアメリカのハワイ島において、Dengue 熱の大流行が勃発発生し、それが両国の研究者を強く刺激した。さらに、当時の軍事的な要請が強力に加わって、研究の推進が計られたのであった。よって、本論文はまず日本国内の Dengue 熱流行に関する記述から始めたい。

ちなみに、標題の「日本本土」とは北海道、本州、四国、九州を指す。すなわち、温帯圏に含まれる地域である。沖縄本島および周辺の島は、亜熱帯ないしそれに近い地域として、本論文の考察から除外した。ただし、これは本論文においてのみの区分であることをお断りしたい。

1942（昭和17）年夏に、突如として Dengue 熱の流行が長崎市内に起こった。流行は急速に佐世保、広島、呉、神戸、大阪などの諸都市にも広がり、さらに1944（昭和19）年まで連続して勃発した（脚注6）。

1942-1944年の間に、典型的症状を示した患者の総数は、少なくとも20万を下らず、軽症や不全型の患者を含めれば、遥かに多数に達したと推定される（Hotta, 1953）。

これは、温帯地方の Dengue 熱流行としては、世界疫学史上に残る最大規模の一つであった。文献上、日本国内での Dengue 熱流行の1例が報告されているが（Kaku, 1923）、その発生規模は小さく（かつ、ウイルス学的確認はなされてい

ない）、従って1942-1944年の大流行は事実上、日本国内での唯一最大のものと見なされよう。

しかもこの日本国内の Dengue 熱流行では、他に類例を見ない際立った以下の特徴を備えている。

- (1) まず、比較的限局された人口稠密な地域、具体的には大都市において、比較的短期間（1942年から1944年までの3年間の夏季）に、一挙に数千、数万の患者が罹患・発生したこと。
- (2) 上記の流行地は、Dengue 熱に対して完全な「処女地」であり、しかも類縁のアルボウイルス感染症は、日本脳炎以外には存在しなかったこと。言い換えれば、患者が示した臨床症状や病理学的変化は、純粋な Dengue 熱の自然感染によるものと見なしても間違いとはならなかったこと。
- (3) 特にウイルス学的に重要な点は、この流行から Dengue ウイルスが初めて分離されたこと。

日本での本症流行以前にも、温帯地における Dengue 熱の大流行が、いくつか記録されている。例えば、北アメリカ中南部（1922-23年）、ギリシャ（1927-28年）、オーストラリア（1925-26年）などのそれである。しかしこれらの流行は、上記のような日本での本症流行が示した、明確な特色は必ずしも備えていなかった。

その当時は、まだ病原ウイルスが確定されていなかったが、例えば、類縁感染症の存在がある。また熱帯地においては、Dengue 熱は古くより年間を通じて常在しているために、その臨床症状や病理学的変化はある程度「修飾」されたものと考えられ、処女地における初感染のそれとはかなり異なるものであろう（この点に関しては、後章で詳述する機会がある）。総じて、1942-44年の日本国内の Dengue 熱流行は、感染症学的にも極めて特質なものと考えられるのである。

そうではあるけれども、残念なことに1942-44年の日本国内の流行は、その歴史的・学術的な偉大な意義にもかかわらず、詳細な記録が現在ほとんど残されていない。その理由は、ひとえに戦時下の特殊事情に基づくものである。

- (1) 第一に、徴兵召集や勤労動員による人口の激しい移動があったため、追跡調査が極めて困難であった。(2) 第二に、記録を取ることで自身が、軍の機密事項に触れる場合があった。特に、長崎、神戸、大阪などの流行初発地は、南方地域との交通の要所になっていた。しかも流行の発端は日本国内に帰航した軍用船の乗組員によってもたらされたが、それら船舶の名称、乗組員数、出港地と寄港地などは原則として秘密とされ、大学在籍者を含めて民間の研究者が、これをうかがい知ることは極めて困難であった。(3) 第三に、苦心して集められた多くの貴重な資料は、大規模な爆撃によって失われてしまった。とりわけ、当時の長崎

（脚注6）1945（昭和20）年にも、本症の流行が認められた。しかしこの年は、広島、長崎の原子爆弾被害を含め、多くの都市が空襲による爆撃にさらされたため、詳細な調査はなされておらず、断片的な記録が残されているに過ぎない。しかも、爆撃およびそれによる火災のため、Dengue ウイルス媒介蚊（後述）の多くが、一時的に消滅させられたと推測されている。恐らくそのためと思われるが、1946（昭和21）年以降、Dengue 熱の流行は日本国内から姿を消した。現在は、外国旅行による輸入感染例が認められるのみとなっている（後述）。



医科大学(現長崎大学医学部)の研究者によって集められた疫学・臨床・病理等の各領域にわたる膨大なデータはすべて灰燼に帰した。また研究者諸氏の多くは死去され、今日その資料を再録することは不可能となっている。

しかしながら、このような事情にもかかわらず、ある程度の調査成績は残されていたので、ここにそれらを収集して、本症の初発状況をでき得る限り詳細に記述考察を試みた。

## I. 長崎のデング熱流行

1942(昭和17)年7月に長崎市内で奇妙な熱病が流行し、患者数は日増しに増加した。事態を重視した長崎県警察部衛生課は、その本態の究明を長崎医科大学(現長崎大学医学部)に委嘱し、同大学内科学教室の角尾晋教授、箴島四郎助教授(写真1, 2)が中心となって研究に打ち込まれた。その結果、本症はデング熱と診断され、長崎県当局によって8月27日にその旨の公式発表がなされた。

流行の発端は、次の通りと推定されている。1隻の軍用船がマレー半島を出発し、途中いくつかの港に寄港した後、7月4日に長崎に入港した。本船の乗組員75名中、13名が船中で本症を発症し、臨床的にデング熱と船医により診定されていた。長崎入港後、全乗組員は上陸し、また船舶修理・荷役などの関係者、および船員家族らのかなりの人数がこの船を訪れている。

なお、同船の通風機ダクトの下部、甲板の凹みなどの小さな水溜まりに、蚊の幼虫と蛹が後日の調査で見えられた。これらを実験室内で飼育・羽化させたところ、デングウイ

ルス媒介蚊の1種である、ネッタイシマカ(*Ae. aegypti*)と同定された(陸軍軍医学校調査班[以下「陸医」と略記], 1943; 山田ら, 1943)。また船内には、同種蚊の成虫が生息・飛翔していたことが、上記のグループにより確認された。

### 流行の初発状況

陸医(1943)、箴島(1942, 1943a, b)の報告、および本著者らの調査データ等を総合すると、長崎の流行は下記のように概括される。

初発は1942(昭和17)年7月11日で、患者数は2名、引き続き7月31日までに7名が発症した。従って、7月中の確認患者数は9名であった。ところが8月に入ると、同様な症状を示す患者が急激に増加し、確認数2,259名に達した。従って、長崎県衛生当局および長崎医科大学を中心として、いくつかの大学、研究機関が協力して対応活動が開始された。

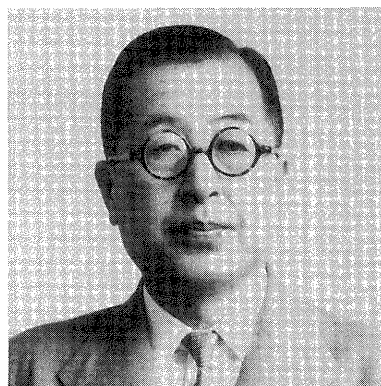
患者数は9月に入ってさらに増加し、10月初旬までに累計13,323名、最終的に23,338名(11月集計)に達したと報告された。ただしこの数値は、上記の公的機関によって確定された公式記録であって、これ以外にも軽症や不全型の患者、あるいは調査に含まれなかった症例などが多数存在したと推定される。従って実数は遥かにこれ以上に及ぶと考えて、大きな誤りはないように思われる。

長崎市内で、特に患者が多発し、濃厚感染地区と認められた場所が3箇所あった。当時の町名で、館内町・中新町・十人町がそれで、これらは相互に近接していた。この地区は家屋の密集度が比較的高く、居住者の多くは当時の



角尾 晋(つのお・すすむ) 博士

1892(明治25年)年 東京都にご出生  
独協中学(旧制), 第一高等学校(旧制)を経て  
1917(大正6)年 東京帝国大学医学部医学科卒業  
1925(大正14)年 長崎医科大学内科学教授  
1936(昭和11)年 長崎医科大学長  
1945(昭和20)年 原子爆弾症にてご逝去



箴島四郎(おさじま・しろう) 博士

1908(明治41)年 佐世保市にご出生  
佐世保中学(旧制), 福岡高等学校(旧制)を経て  
1929(昭和4)年 東京帝国大学医学部入学  
長崎医科大学に転学  
1933(昭和8)年 長崎医科大学卒業  
1940(昭和15)年 長崎医科大学内科学助教授  
1946(昭和21)年 長崎医科大学教授(後に長崎大学医学部教授)  
1974(昭和49)年 定年退官  
1994(平成6)年 ご逝去

三菱長崎造船所、および関連の船舶運輸工場の勤務者、並びにその家族であったと言われる。当時この一帯に、デングウイルス媒介蚊の一種ヒトスジシマカ (*Ae. albopictus*) が多数生息していたことが確認されていた。元来この地区は丘陵の斜面に位置し、水はけが極めて良好、過去に蚊の発生はあまり多くなかったと言われていた。しかし戦時の防火対策のため、多数の水槽が設置され、それらがいわゆるヤブカ (*Aedes* 蚊) の絶好の繁殖水域となっていた。この事情は広く日本の他の都市にも見られ、当時のデング熱大流行の重要な促進要因となったものと考えられる。

この地区の流行に関して注目すべきことは、女性の罹病率が男性のそれよりも、比較的高い傾向が見られた点である。すなわち、

住民罹病率 (住民数に対する患者数の比率)

男性39.8%: 女性47.9%

であった。この傾向は、20歳から50歳までの年齢層において特に著しく、

男性40.1%: 女性54.2%であった。ちなみに、

地区全体の罹病率=2,704/6,162 (43.8%) であった (陸医, 1943)。

このような差異の原因は、未だ明確にされていない。しかし推察される一つの点として、この年代の女性は、昼間に家庭内に留まる機会が多いためではないかと当時考えられた。既に知られているように、人家内あるいはその周辺に、ヒトスジシマカは好んで生息し、しかも、その飛翔能・吸血活動は夜間よりもむしろ昼間において活発である。また、この年代の女性は患者の看護のために、患者に近づく頻度が高く、それだけ感染蚊の刺咬を受ける機会が多くなった可能性が考えられた。

また罹病率は、年齢によっても差のあることが認められた。

7歳以下の小児では、約30%、

学童期の少年少女では、約45%、

成人は、約48%

という数値が得られている。年少者の罹病率の低い傾向は、著者らも流行の初期に観察している (木村ら, 1942)。また、乳児の症状の比較的軽度であることも認めた。

このような傾向が、当時の日本の特殊な事情によったものであるか、あるいは他の国、他の地域でも認められるかという問題は、一考に値すると思われる。

池庄司 (1993) は、蚊に刺され易いヒトと、そうでないヒトの存在する可能性について記述し、文献上ネッタシマカやアノフェレス (*Anopheles gambiae*) について、そのヒト吸血性に有意の差を認めた諸家の成績を紹介している。それによれば、ヒトの性、年齢、個人差などによって蚊の嗜好性が影響される可能性が指摘されている。個人差としては、皮膚の色調 (黒さ)、体温、発汗量、皮脂分泌量、血液型などが挙げられ、また女性については、月経と関連して蚊の誘因性が周期的に変動を示すという報告もあるといわれる。

最近の西アフリカ・ガンビアでの観察によれば、妊婦が

*An. gambiae* (アフリカにおける最も主要なマラリア媒介蚊の一種) をひきつける割合は、非妊婦のそれに比べてほぼ2倍になった (Lindsay *et al.*, 2000)。その理由として、妊婦による呼気量の増加 (従って CO<sub>2</sub> 排出量の増加)、皮膚血流量の増大 (従って皮膚温の上昇) などが挙げられている。また、妊婦は頻尿に傾くため、夜間蚊帳を出てトイレに行く回数が増すため、必然的に蚊の刺咬頻度が高くなり、これが実際上感染の機会を増大させる可能性があると思われている。

上記の長崎で見られた罹病率の差が、果たしてこのような観点から、説明できるか否かは判断としない。また、このような因子の影響の度合いが、必ずしも絶対的なものと言えないかも知れない。しかし、全く根拠のないものとして無視すべきでもなく、今後の科学的検討が必要ではないかと思われる。

特に、幼少年期の個体の罹病率や臨床症状が、比較的軽く軽度であるという観察は、陸医 (1943)、著者 (木村ら, 1942) のそれが軌を一にしている。また、長崎や神戸の流行において、小児の症状は成人のそれとやや異なり、比較的軽い傾向があるのではないかと推察した記載 (内田・石川, 1942; 箴島, 1943b) は、注目すべき点と考えられる。

すなわち、近年熱帯・亜熱帯地域で流行しつつある、重度のデング熱感染 (いわゆる「デング出血熱・ショック症候群」, DHF/DSS) は、幼少年期の患者に多発することが多くの研究者によって異論なく認識されている。しかしこれと、日本の長崎における流行とは、全く矛盾する現象のように思えるであろう。前述したように、1942年の長崎の流行の調査は、当時の特殊な条件下のために十分な資料に基づいているとは言い難い。本来ならば、より正確になされたであろう観察も、種々の制約によって必ずしも理想通りには、進められなかったことは事実である。しかし、得られた限りのデータは、専門家の目を通したものであるので、一定の基準的な価値を与えられるべきと著者は判断している。

ただし、これに関連して特に指摘しておかねばならないことは、熱帯地におけるデング熱は多くの場合、二次感染 (secondary infection) を含むものであるのに対して、長崎のデング熱は「処女地における、短期間内の、爆発的な初感染流行」という、極めて特異な事象であった点である。このようなことを念頭において、デング熱の流行を観察することは、単に疫学的に興味ある対象であるばかりでなく、デング熱の pathogenesis を解明する上にも、今後重要な課題となるであろうと思われる。デング出血熱・ショック症候群に関しては、後章において詳細に述べる予定である。

## II. 神戸における流行

上述の長崎の流行は、1隻の軍用船によって持ち込まれ、その初発は比較的限局された地区においてであり、そこから順次全市地域に拡大したと見られる。これに対し、神戸

の流行は2隻の軍用船から発し、初発地は数カ所にわたっている。いわば multifocal な発生であったと言えよう。大城 (1942, 1943) の実施した聞き取り調査を基に、全体像をまとめてみると次のようになる。

#### (1) 軍用船 (甲) により持ち込まれた流行

1942 (昭和17) 年7月初旬、軍用船 (甲) が南方地域から神戸港に入港した。船員は上陸し、各自の自宅または宿舎に入って滞在した。

##### A 地区 (灘区水道筋)

この地区に入った船員の1人 (38歳, 男子) が7月14日に高熱を発して臥床、約1週間で一応症状は消失した。ついでその近辺に、7月29日、7月31日、8月10日に、それぞれ同様の症状を呈する患者が現れ、以後次々に流行が広がった。臨床的検査の結果、すべてデング熱と診定された。

##### B 地区 (須磨区大谷町)

上記と同じ船の乗組員 (44歳, 男子) が、この地区に宿泊した。7月8日に発熱したが、4日後に解熱し、典型的なデング熱症状は認められなかったという。しかし7月28日に、典型的なデング熱症状を発する患者1名が近所に見出され、ついで8月13日に同様症状の患者1名が発生、以後患者が続発した。

##### C 地区 (湊区熊野町)

同船の他の船員 (47歳, 男子) がこの地区で7月22日に発症、次いで8月14日に隣家の主婦が、8月16日にその夫がそれぞれ発症、以後その地区に患者が続発した。

##### D 地区 (林田区東尻池)

同じ船の船員 (19歳, 男子) がこの地区で7月31日に発症、8月15日に隣家2軒から3名の患者、8月16日に初発患者の家族から1名の患者がそれぞれ発生し、以後同様症状の患者が近所に多発した。

#### (2) 軍用船 (乙) により持ち込まれた流行

##### E 地区 (葦合区神若通)

上記 (甲) と別の軍用船 (乙) が、7月初旬に南方地域から神戸に入港した。その船の荷役に従事した港湾作業員 (29歳, 男子) が7月10日に高熱を発し、約1週間の臥床の後に解熱した。7月31日その隣家に1名、8月1日に同人の家族に2名、それぞれ同様症状を呈する患者が発生、以後多くの患者が続発した。

##### F 地区 (葦合区小野柄通)

E 地区よりやや離れた地区に、港湾作業関係者が多数出入りする飲食店があったが、同店の主人 (43歳, 男子) が8月23日に発病し、次いで9月5日、その近所の家に同様症状の患者が1名発生、以後多数の患者が現れた。

このようにして、兵庫県衛生課は本症がデング熱である

表2 神戸市に発生したデング熱患者数  
昭和17 (1942) 年9月30日現在、  
兵庫県衛生課発表

地区	患者数
A	248
B	134
C	20
D	300
E	268
F	164
計	1,134

(A)灘区水道筋 (B)須磨区大谷町  
(C)湊区熊野町 (D)林田区東尻池  
(E)葦合区神若通 (F)葦合区小野柄通  
地区の名称は、当時のもので、その後、  
表示名の多くは変更されている (以上、  
大城, 1942による)。

と認定、9月10日に公式発表を行った。1942 (昭和17) 年9月末日までに確認された患者は、(表2) に示した。ただし、これも前述した長崎の場合と同じく、典型的症例の公式認定数であって、実際の患者数はこれより遥かに多かったと推測して間違いのないであろう。

### Ⅲ. 大阪における流行

大阪市も1942 (昭和17) 年から1944 (昭和19) 年にわたり、デング熱の侵襲を受けた。特に濃厚な感染を蒙った地域は、市の中心部の住宅・商業地である北浜地区で、その他に陸軍造兵工廠を中心とした工場地帯でも感染・流行を蒙った。

本症の流行が見られた地域性という点で、長崎や神戸のように、港に近接した地区が流行の初発地となったことと趣を異にしている。大阪の流行も、その病原ウイルスの由来が南方地域であることは間違いのないと思われる。しかし、ウイルスがどのような経路によって持ち込まれたかは、明らかにされていない。ただ、爆発的な流行の因子の一つが、解放系の水タンク、あるいは水たまりのあった防空壕であったことが知られている。

著者の聞き取り調査に対し、北浜で開業の稲葉章道博士は、次のように証言している。同地区に、住民の大多数を収容できる大型防空壕がいくつか設置され、防空退避訓練がほとんど毎週のごとく実施された。それらの壕内に無数の蚊が生息していたことは事実である。蚊の種類は不詳であったが、ヒトスジシマカが混在していたことが推測される。

むろん、当時大阪市内においても、多数の防火水槽が設置されており、それらは蚊の好適な産卵場所であったと思われる。当時病名不詳の熱性疾患に罹っていた患者が、退避訓練に加わって壕内に入ったことは事実である。その時点から何回目かの退避訓練の後に、デング熱が爆発的に発生した (稲葉博士の証言)。感染経路に関する確実な追跡

調査はなされていないが、極めて興味ある証言と言うべきであろう。おそらく上記の患者はデング熱に罹患しており、その患者から吸血したヒトスジシマカが、次回あるいは次々回、またはそれ以後の吸血の際に、防空訓練中の多数の健康人を刺咬したと推察される。

以上、長崎、神戸、大阪での本症事例を通じて明らかなことは、一時的なネッタシマカの侵入によるデングウイルス媒介蚊の役割もさることながら、多数のヒトスジシマカが生息している地域に、一旦デング熱患者が入ると、それを起点として患者が幾何級数的に続発し、爆発的な大流行に導かれる可能性があるということである。特に日本国内のように、住民に抗デングウイルス免疫の無い地域、いわゆるデング熱の処女地においては、感染の規模が極限にまで増幅されたものと考えられる。前述の3地域のいずれにおいても、初発感染から二次、三次の感染に至る時間的關係は、デングウイルスを吸血した蚊が感染能力を獲得するまでの期間、言い換えれば、ヒトスジシマカ体内におけるデングウイルスの成熟・増殖、並びにヒトにおけるデング熱の潜伏期の長さなど（以上、後章において詳述する）から説明することができよう。

日本国内における1942-1944年のデング熱流行は、戦争中の特殊な条件下で起こったものであり、同様な本症流行が繰り返されし起こるとは思われぬ。しかし、現実に生じたことは疑いの無いことであり、その状況を適切に認識把握しておくことは、本症予防のために有意義な参考になり得るであろう。

なお上記の長崎、神戸、大阪の他に、佐世保、福岡、呉の諸都市および熊本県天草地方にも流行が認められたが、それらはいずれも比較的小規模であった。ちなみに、天草の牛深町では、本症の流行を機にネッタシマカの一時的な生息が確認され、注目に値する事実である。これについては、後に詳しく記述する予定である。

## 文献目録

- 1) Kuno, G. and Flores, B. (1982): Bibliography of Dengue Fever and Dengue-like Illnesses, 1780-1981, 303 pages, South Pacific Commission, Noumea, New Caledonia.
- 2) Kuno, G. (1993): A Bibliographic Database on Dengue, 469 pages, CDC National Center for Infectious Diseases, Dengue Branch, San Juan, Puerto Rico.

## 成 書

- 1) Gubler, G.J. and Kuno, G. (eds.) (1997): Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, 478 pages, CAB International, New York.
- 2) Haagen, E. (1963): Arbor-Viren, in *Viruskrankheiten des Menschen*, pp. 579-801, Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt.
- 3) Hotta, S. (1969): *Dengue and Related Hemorrhagic Diseases*, 166 pages, W. H. Green, Inc., St. Louis.
- 4) Hotta, S. (1978): *Dengue and Related Tropical Viruses*, 308

pages, Yukosha Printing House, Kobe.

- 5) Prasert Thongcharoen (compl.) (1993): *Monograph on Dengue/Dengue Haemorrhagic Fever*. SEARO Publication No. 22, 163 pages, WHO Regional Office for South-East Asia, New Delhi.
- 6) Schlesinger, R.W. (1977): *Dengue Viruses (Virology Monographs, 16)*, 132 pages, Springer-Verlag, Wien.

## 参考論文

- 1) Ashburn, P.M. and Craig, C.F. (1907): Experimental investigations regarding the etiology of dengue fever. *J. Infect. Dis.*, 4, 440-475
- 2) Bancroft, T.L. (1906): On the aetiology of dengue fever. *Austral. Med. Gaz.*, 25, 17-18
- 3) Bylon, D. [Bijlon, D.] (1780): Korte aantekening wegens eene algemeen ziekte doorgaans genaamed knokkel-koorts. *Batavia Soc. Arts. Sci. Trans.*, 2, 17-30 (復刻版: *Ann. Med. Hist.*, 3, 363-368, 1941)
- 4) Carey, D.E. (1971): Chikungunya and dengue: a case of mistaken identity? *J. History Med.*, 26, 243-262
- 5) Casals, J. (1968): Problems encountered in the classification and nomenclature of the arthropod-borne viruses (Arboviruses). *Am. J. Epidemiol.*, 88, 147-148
- 6) Casals, J. and Brown, L.V. (1954): Hemagglutination with arthropod-borne viruses. *J. Exp. Med.*, 99, 429-449
- 7) Cavanagh, D. (1997): *Nidovirales*; a new order comprising *Coronaviridae* and *Arteriviridae*. *Arch. Virol.*, 142, 629-633
- 8) Clarke, D.H. and Casals, J. (1958): Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 7, 561-573
- 9) Cleland, J.B., Bradley, B. and McDonald, W. (1916): On the transmission of Australian dengue by the mosquito, *Stegomyia fasciata*. *Med. J. Austral.*, (ii), 179-184, 200-205
- 10) Cleland, J.B., Bradley, B. and McDonald, W. (1919): Further experiments in the aetiology of dengue fever. *J. Hyg.*, 18, 217-254
- 11) Graham, H. (1903): The dengue: a study of its pathology and mode of propagation. *J. Trop. Med.*, 6, 209-214
- 12) Halstead, S.B. (1988): Pathogenesis of dengue: challenge to molecular biology. *Science*, 239, 476-481
- 13) Hirsch, A. (1883): *Handbook of Geographical and Historical Pathology*, ed. 2 (Translation by Creighton, G.), Vol. 1, 55-81, New Sydenham Soc., London
- 14) Hotta, S. (1953): Dengue epidemics in Japan, 1942-1945. *J. Trop. Med. Hyg.*, 56, 83
- 15) 池庄司敏明 (1993): 蚊, 246頁, 東京大学出版会, 東京
- 16) Kaku, T. (1923): Ueber das Denguefieber. *Deutsch. Med. Wschr.*, 49, 441-442
- 17) 木村 廉, 東昇, 大塚一三, 堀田 進, 赤沢一三 (1942): デング熱の研究: 長崎市におけるデング熱所見. *日本医学健康保険*, 3306号, 2285-2286
- 18) 小泉 丹, 山口謹爾, 殿村京造 (1916): デング熱について. *日新医学*, 6, 955-1004
- 19) Levett, P.N., Branch, S.L. and Edwards, C.N. (2000): Detec-

- tion of dengue infection in patients investigated for leptospirosis in Barbados. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 62, 112-114
- 20) Lindsay, S., Ansell, J., Selman, C., Cox, V., Hamilton, K. and Walraven, G. (2000): Effect of pregnancy on exposure to malaria mosquitoes. *Lancet*, 355, 1972
  - 21) Lumley, G.F. and Taylor, F.H. (1942): Dengue. *Serv. Publ. No.3, School of Public Health and Tropical Medicine, Commonwealth Department of Health, Sydney.*
  - 22) Mackerras, I.M. (1946): Transmission of dengue fever by *Aedes (Stegomyia) scutellaris* Walk. in New Guinea. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 40, 295-312
  - 23) Monath, T.P. (1994): Dengue: the risk to developed and developing countries. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 2395-2400
  - 24) Murphy, F.A., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Ghabrial, S.A., Jarvis, A.W., Martelli, G.P., Mayo, M.A. and Summers, M.D. (1995): Virus Taxonomy; Classification and Nomenclature of Viruses; 6th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol. Suppl.*, 10, pp. 415-433
  - 25) 野淵 紘 (1979): 中国医学原典に記載される Dengue 熱の症候について. *漢方の臨床*, 26, 422-425
  - 26) Nothnagel, H. (1905): Nothnagel's Encyclopedia of Practical Medicine. Saunders, Philadelphia
  - 27) 箴島四郎 (1942): 長崎市に流行中の Dengue 熱の臨床的観察. *日本医学健康保険*, 3307号, 2351-2352
  - 28) 箴島四郎 (1943 a): 昭和17年長崎市に流行せる Dengue 熱の臨床的観察. *日本伝染病学誌*, 17, 591-592
  - 29) 箴島四郎 (1943 b): 昭和17年長崎市内に流行せる Dengue 熱の臨床的観察. *診断と治療*, 30, 315-329
  - 30) 大城俊彦 (1942): 昭和17年神戸市流行の Dengue 熱について (予報). *日本医学健康保険*, 3306号, 2290-2292
  - 31) 大城俊彦 (1943): 昭和17年神戸市流行 Dengue 熱の疫学的並に臨床的観察. *日本伝染病学誌*, 17, 592-597
  - 32) Pringle, C.R. (1999): Virus Taxonomy 1999: the universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. *Arch. Virol.*, 144, 421-429
  - 33) Reed, W., Carroll, J., Agramonte, A. and Lazear, J.W. (1900): Etiology of yellow fever: preliminary note. *Philadel. Med. J.*, 6, 790-796
  - 34) Reed, W., Carroll, J. and Agramonte, A. (1901): Etiology of yellow fever: additional note. *JAMA*, 36, 431-440
  - 35) Reed, W. and Carroll, J. (1902): Etiology of yellow fever: supplemental note. *Am. Med.*, 3, 301-305
  - 36) 陸軍軍医学校調査班 (班長; 長尾五一) (1943): 長崎市に流行せる Dengue 熱調査報告. *軍医団誌*, 358号, 235-258
  - 37) Rosen, L., Rozeboom, L.E., Sweet, B.H. and Sabin, A.B. (1954): The transmission of dengue by *Aedes polynesiensis* Marks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3, 878-882
  - 38) Savage, H.M., Fritz, C.L., Rutstein, D., Yolwa, A., Vorndam, V. and Gubler, D.J. (1998): Epidemic of dengue-4 virus in Yap State, Federated States of Micronesia, and implication of *Aedes hensilli* as an epidemic vector. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 58, 519-524
  - 39) Siler, J.F., Hall, M.W. and Hichens, A.P. (1926): Dengue: its history, epidemiology, mechanism of transmission, etiology, clinical manifestations, immunity, and prevention. *Philippine J. Sci.*, 29, 1-304
  - 40) Simmons, J.S., St. John, J.H. and Reynolds, F.H.K. (1931): Experimental studies of dengue. *Philippine J. Sci.*, 44, 1-251
  - 41) Snijders, E.P., Dinger, E.J. and Schüffner, W.A.P. (1931): On the transmission of dengue in Sumatra. *Am. J. Trop. Med.*, 11, 171-197
  - 42) Strode, G.K. (ed.) (1951): Yellow Fever. 710 pages, Mc Graw-Hill, New York.
  - 43) 内田三千太郎, 石川東二 (1942): 神戸市における Dengue 熱警見. *日本医学健康保険*, 3306号, 2287-2290
  - 44) van Rooyen, C.E. and Rhodes, A.J. (1948): Dengue fever, in *Virus Diseases of Man*, pp. 437-454, Thomas Nelson, New York
  - 45) Vazeille-Falcoz, M., Rosen, L., Mousson, L. and Rodhain, F. (1999): Replication of dengue type 2 virus in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 60, 319-321
  - 46) 山田 学, 伊熊健治, 大島正満 (1943): 本邦内地における ネットアイシマカの発見について. *軍医団誌*, 359号, 397-398

**Review****Dengue Fever and Dengue Virus**

— A Challenge to Tropical Medicine —

SUSUMU HOTTA, M.D., Ph.D.

Professor Emeritus, Kobe University,  
Vice President, WHO Association of Japan

This series of papers will present an overview on dengue fever and dengue viruses. i.e., history, symptomatology, pathology, virus isolation, basic properties of viruses, pathogenesis, prevention, epidemiology, etc.

The present issue consists of two chapters. The first chapter contains such sections as: historical aspects, relatedness to other arboviruses, nomenclature and classification.

The second chapter describes big dengue epidemics which occurred in Japan during 1942-1945. Port cities such as Nagasaki and Kobe were heavily infected. The first onset was among seamen of cargo boats which were connecting those port cities and Southern areas such as Philippine Islands, Malaysia, Indonesia, New Guinea, etc. About two hundred thousand typical cases were reported and the whole number of patients including abortive and unrecorded ones were probably much greater. This was the first and only outbreak of dengue fever in Japanese main islands and also one of the greatest dengue epidemics ever recorded in the temperate regions.

Chapters describing the other items will follow in later issues of this Journal.

Short communication

## CULTIVATION OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* ISOLATES UNDER THE ANAEROPACK<sup>®</sup> GAS CONDITION IN A PORTABLE THERMOSTATIC INCUBATOR

YASUTAKA MIZUNO<sup>1,2</sup>, TOSHIMITSU HATABU<sup>1</sup>, SHIN-ICHIRO KAWAZU<sup>1</sup>, GOHTA MASUDA<sup>3</sup>, HIROSHI OHTOMO<sup>2</sup>, MAMORU SUZUKI<sup>4</sup> AND SHIGEYUKI KANO<sup>1</sup>

Received February 27, 2000/Accepted November 6, 2000

Establishment of the candle jar method for continuous cultivation of *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) by Trager and Jensen (1976) allowed for parasites to be maintained *in vitro*. The secret of cultivation is keeping the oxygen at a low concentration (WHO, 1977). Now, the gas condition can be adjusted automatically in an ordinary CO<sub>2</sub> incubator (Waki *et al.*, 1984) or a computerized mixed-gas incubator (Takagi and Waki, 1987; Trager, 1990). Although an incubation system can be easily maintained in a relatively sophisticated laboratory, it is not always an appropriate technology to transfer to the field. The AnaeroPack<sup>®</sup> Malaria Culture System (SUGIYAMA-GEN Co., Ltd., Tokyo) was devised as a portable cultivation system in which the proper conditions for growing *P. falciparum* parasites can be maintained in a sealed jar. Culture-adapted strains of *P. falciparum* have been reported to grow nicely in systems that use such gas generators as the AnaeroPack<sup>®</sup>·Campylo (Haruki *et al.*, 1997), AnaeroPack<sup>®</sup>·CO<sub>2</sub>, or AnaeroPack<sup>®</sup>·

plas (Onda *et al.*, 1999). We examined whether this system could also be used for cultivation of freshly isolated parasites from patients.

*P. falciparum* isolates were obtained from four imported-malaria patients in Japan. IMA-1 was taken from a Japanese man who contracted malaria in the Philippines; IMS-1 was taken from a Japanese man who was infected in Thailand; IMK-1 was taken from a Japanese woman who returned from Mali; and IME-1 was isolated from a Zambian man who moved to Japan. The isolates were subjected to three different gas conditions: mixed gas (5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub>), AnaeroPack<sup>®</sup>·CO<sub>2</sub> (15% O<sub>2</sub>, 6% CO<sub>2</sub>), and AnaeroPack<sup>®</sup>·plas (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>). Mixed gas conditions were maintained by computerized incubator (ASTECCo., Ltd., Tokyo). The AnaeroPack<sup>®</sup> gas generators are used as follows. Briefly, an aluminum packet is opened containing a dry paper sachet that is put into an AnaeroPack<sup>®</sup>·Kakugata jar (SUGIYAMA-GEN Co., Ltd.). Requiring nei-

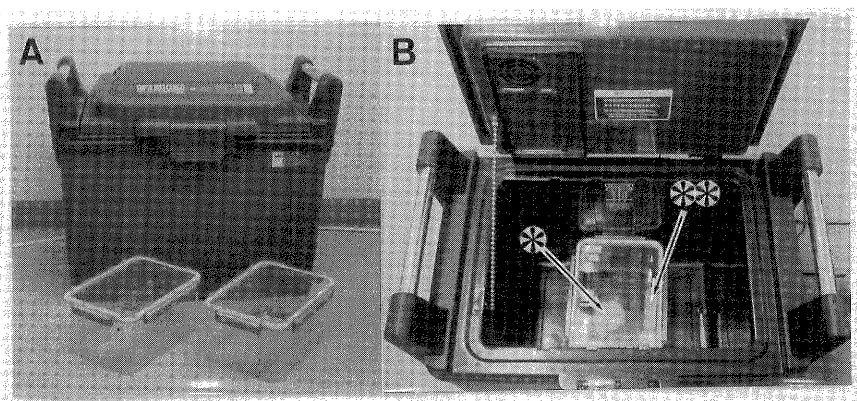


Figure 1 A. An outfit of AnaeroPack<sup>®</sup> Malaria Culture System with a portable incubator and Kakugata jars. B. An AnaeroPack<sup>®</sup>·Kakugata jar inside the incubator. Arrows indicate the petridish (\*) and a dry paper sachet (\*\*).

1 Research Institute, International Medical Center of Japan, Tokyo 162-8655, Japan

2 Department of Tropical Medicine, Jikei University School of Medicine, Tokyo 105-8461, Japan

3 Department of Infectious Diseases, Tokyo Metropolitan Komagome Hospital, Tokyo 113-8677, Japan

4 Department of Parasitology, Gunma University School of Medicine, Gunma 371-8511, Japan

Corresponding author: Shigeyuki Kano, Research Institute, International Medical Center of Japan, Tokyo 162-8655, Japan

Tel: 03-3202-7181 (2877), Fax: 03-3202-7364, E-mail: kano@ri.imcj.go.jp

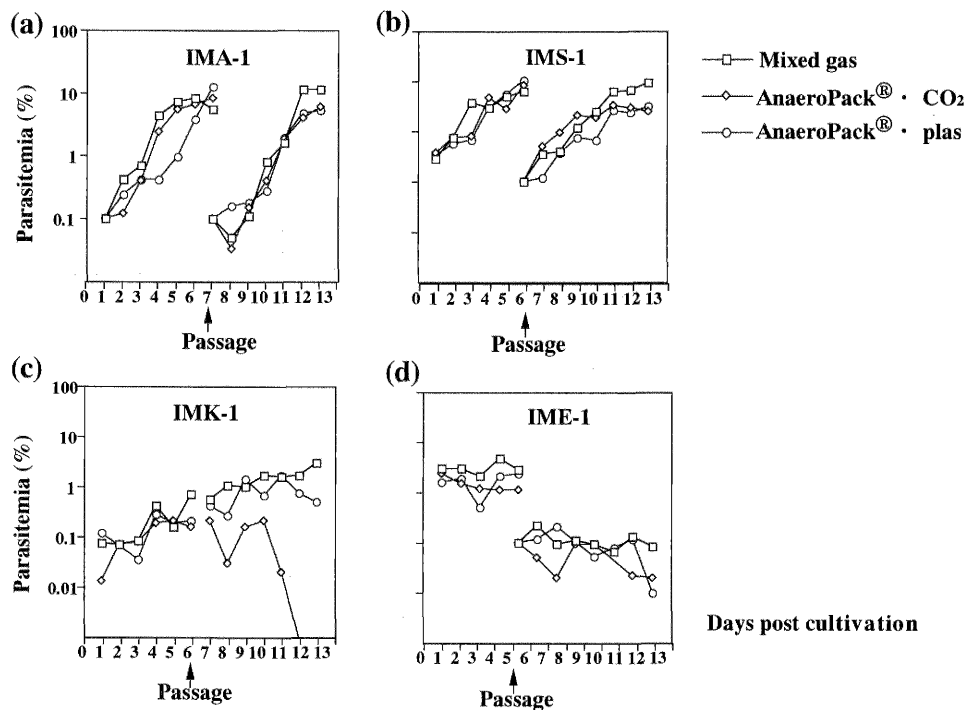


Figure 2 Parasite proliferation curves of wild isolates under the different gas systems.

ther water nor catalyst, the sachet starts immediately to absorb  $O_2$  and simultaneously generate  $CO_2$  until the predetermined gas condition is reached. Stable gas conditions can be attained within 2 hr and last over 24 hr. The jar is then placed into a portable incubator (SUGIYAMA-GEN Co., Ltd.) (Fig. 1) in which the temperature is maintained at  $37^\circ C$  by a specific thermostat. The incubator needs only to be supplied with alternating current or direct current from a car battery. The sachet inside the jar is replaced with a new one every day when the culture medium, RPMI 1640 (GIBCO BRL, NY) with 10% human serum and  $25 \mu g/ml$  Gentamicin, pH 7.4, is changed. In the present experiment, parasite growth was monitored by microscopic observation on Giemsa-stained smears.

Parasite proliferation curves of IMA-1 and IMS-1 under the different gas systems were almost parallel (Fig. 2-a and b). IMK-1 stopped growing for an unknown reason under the AnaeroPack<sup>®</sup>· $CO_2$  condition just after 10 days of cultivation (Fig. 2-c). IME-1 did not grow very well under any of the three conditions for 2 weeks (Fig. 2-d) but eventually started multiplying (data not shown). The AnaeroPack<sup>®</sup> Malaria Culture System provided conditions preferable to those provided by the ordinary mixed-gas incubator.

Infestation of drug resistant strains of *P. falciparum* is a major obstacle to prevention and treatment of falciparum malaria. It is important to monitor drug susceptibility *in vitro* to document the extent and distribution of resistance

against not only chloroquine but also other antimalarial agents. If we isolate new parasites from malaria patients in the field, drug susceptibility tests should ideally be conducted on-the-spot. Bras *et al.* (1983) reported differences in *in vitro* drug susceptibility of isolates between before and after adaptation to continuous culture. Lin *et al.* (1999) reported no difference in the results of drug susceptibility tests between the gas conditions produced by the mixed-gas incubator and the AnaeroPack<sup>®</sup>· $CO_2$  using some culture-adapted chloroquine-sensitive and -resistant strains of *P. falciparum*. We show that wild isolates from the *P. falciparum* patients can be grown nicely in a portable system.

On the other hand, a piece of AnaeroPack<sup>®</sup> gas generator costs only 200 yen and supplies the gas to the AnaeroPack<sup>®</sup>·Kakugata jar which can hold 24 culture dishes (60 mm in diameter) or 8 culture dishes (100 mm in diameter) inside. This culture system is much cheaper than maintaining an ordinary mix gas incubator in the laboratory. Tangible advantage in cost effectiveness is also recognized.

Therefore this AnaeroPack<sup>®</sup> gas generator and portable incubator system is recommended as an appropriate technology to be transferred to the field for epidemiological surveys of drug resistant malaria. Indeed, a small pilot study on the epidemiology of chloroquine- and mefloquine-resistant falciparum malaria is currently underway in an endemic area in the Philippines. The results of the field survey will be reported elsewhere.



## ACKNOWLEDGMENTS

This project was funded in part by a Grant for International Health Cooperation Research (10A-1) from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, and a Grant for Research on Health Sciences focusing on Drug Innovation (42204) from The Japan Health Science Foundation.

## REFERENCES

- 1) Bras, J.L., Deloron, P., Ricour, A., Andrieu, B., Savel, J. and Coulaud, J.P. (1983): *Plasmodium falciparum*: Drug sensitivity *in vitro* of isolates before and after adaptation to continuous culture. *Exp. Parasitol.*, 56, 9-14
- 2) Haruki, K., Kobayashi, F., Fujino, T., Yokota, N., Matsui, T. and Tsuji, M. (1997): Evaluation of AnaeroPack Series to determine drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, 25(Suppl), 87
- 3) Lin, Q., Onda, T., Kano, S., Masuda, G. and Suzuki, M. (1999): *In vitro* drug susceptibility test of *Plasmodium falciparum* using a portable thermostat and CO<sub>2</sub> gas generator. *J. Jpn. Assoc. Inf. Dis.*, 73, 1099-1103
- 4) Onda, T., Lin, Q., Kano, S. and Suzuki, M. (1999): Continuous *in vitro* culture of *Plasmodium falciparum* using microaerophilic gas generators and portable incubator. *J. Jpn. Assoc. Inf. Dis.*, 73, 1095-1098
- 5) Takagi, T. and Waki, S. (1987): Requirement of low oxygen tension for adaptation of a new isolate of *Plasmodium falciparum* to continuous *in vitro* culture. *J. Parasitol.*, 73, 238-240
- 6) Trager, W. (1990): On the establishment in culture of isolates of *Plasmodium falciparum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 84, 466
- 7) Trager, W. and Jensen, J.B. (1976): Human malaria parasites in continuous culture. *Science*, 193, 673-675
- 8) Waki, S., Miyagami, T., Nakazawa, S., Igarashi, I. and Suzuki, M. (1984): Maintenance and propagation of human malaria parasites in culture using an ordinary CO<sub>2</sub> incubator. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 78, 418
- 9) WHO (1997): Summary of discussions on *in vitro* cultivation of malaria parasites (1977): *Bull. World Health Organ.*, 55, 411-419

Short communication

# DEVELOPMENT OF THE JAPANESE STRAIN OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM* SPOROCCYSTS IN *ONCOMELANIA HUPENSIS NOSOPHORA* AND *O.H. CHIUI*

YUZURU IWANAGA<sup>1</sup>, MORIYASU TSUJI<sup>2</sup> AND MASAMOTO KANNO<sup>1</sup>

Received July 26, 2000/Accepted November 6, 2000

*Oncomelania hupensis* subspecies serve as intermediate snail hosts for *Schistosoma japonicum*. It is well known that the Japanese strain of *S. japonicum* shows different degrees of infectivity to *O. hupensis* subspecies (De Witt, 1954; Iwanaga, 1976a, b; Lee and Fan, 1982; Iwanaga *et al.*, 1984; Lee *et al.*, 1986). Although the larval development of *S. japonicum* in *O. hupensis* has been described (Harada, 1971; Jourdan and Xia, 1987; Xia and Jourdan, 1991), few detailed observations exist on the relationship between the location of sporocysts and infectivity of snails.

The present paper examines this relationship using the Japanese strain of *S. japonicum* and *O. h. nosophora* and *O. h. chiui*. The Japanese strain of *S. japonicum* originated from Yamanashi has been maintained in our laboratory by passage through *O. h. nosophora* and Swiss albino mice. The snails employed were reared in our laboratory by the method of Iwanaga and Tsuji (1972), and only adult snails

were used. The laboratory colonies were obtained as follows: *O. h. nosophora* from Yamanashi, Japan, *O. h. chiui* from Shihmen, Taiwan. For distribution of sporocysts, experimental snails were divided into two groups; the first group consisting of snails in which mature daughter sporocysts, including mature cercariae, developed; the second group consisting of snails in which neither mature daughter sporocysts nor mature cercariae developed. To localize site in snails where the parasite developed, the snails were divided into five regions as shown in Fig. 1; The head (region 1), gill (region 2), kidney and intestine (region 3), stomach (region 4), and mid-gut (region 5). Snails were individually exposed to 20 miracidia and 5 snails each were examined 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20 and 22 weeks later. Examination of some snails was with a dissecting microscope, other snails were fixed in Bouin's, serially sectioned at 8-10 μm, and stained with hematoxylin-eosin for histological observation.

The result of distribution of immature daughter sporo-

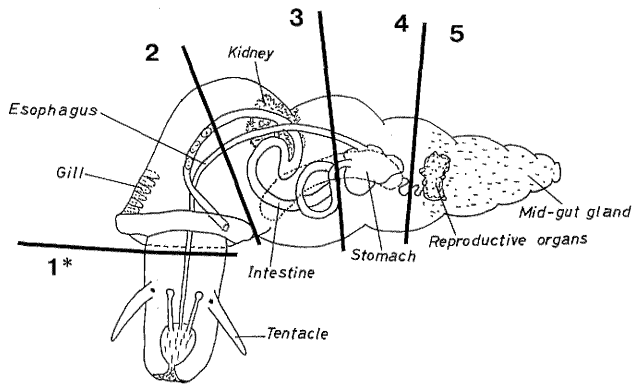


Figure 1 Diagram showing *Oncomelania hupensis* divided into region  
 \*Region of snail: 1. Head region 2. Gill region  
 3. Kidney and intestine region  
 4. Stomach region 5. Mid-gut region

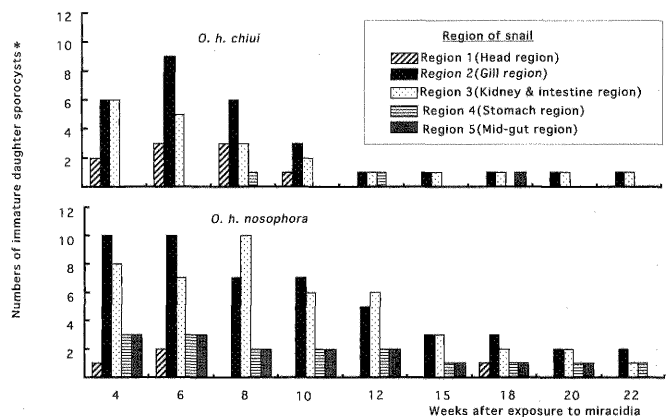


Figure 2 Distribution of immature daughter sporocysts of *Schistosoma japonicum* in *Oncomelania hupensis nosophora* and *O. h. chiui*  
 \* : Total numbers of snails examined

1 Department of Immunology and Parasitology, Hiroshima University School of Medicine, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan  
 2 Department of Tropical Medicine and Parasitology, Kyorin University School of Medicine, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka 181-0004, Japan  
 Corresponding author. YUZURU IWANAGA, Department of Immunology and Parasitology, Hiroshima University School of Medicine, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan, Fax: 082-257-5179 E-mail: iwanaga@mcai.med.hiroshima-u.ac.jp

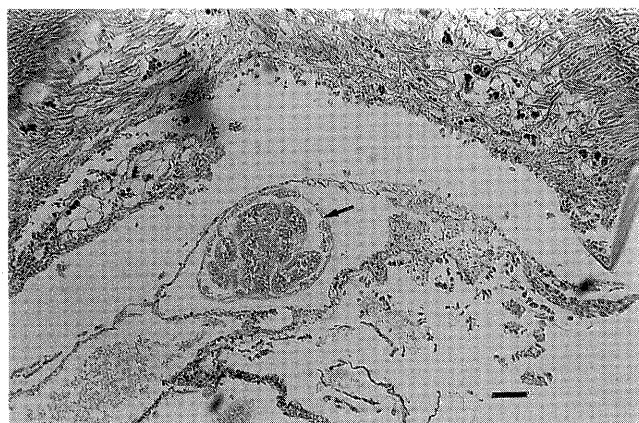


Figure 3 Section of normally developing immature daughter sporocyst\* in kidney of snail, 6 weeks postexposure, hematoxylin-eosin stain,  $\times 12.5$ .

\* Sporocyst recovered from *O. h. nosophora*, Arrow show sporocyst and scale bar represent 50  $\mu\text{m}$



Figure 4 Section of degenerating immature daughter sporocyst in kidney of snail, 12 weeks postexposure, hematoxylin-eosin stain,  $\times 50$

\* Sporocyst recovered from *O. h. chiui*, Arrow show sporocyst and arrow-head, amoebocytic or leukocytic-like cells. Scale bar represent 20  $\mu\text{m}$

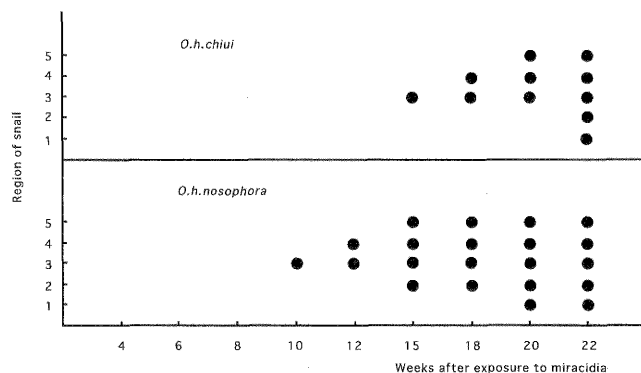


Figure 5 Distribution of mature daughter sporocysts of *Schistosoma japonicum* in *Oncomelania hupensis nosophora* and *O. h. chiui*.

● : Mature daughter sporocysts observed in each region

cysts in the snails is shown in Fig. 2. The majority of immature sporocysts were detected in regions 2 and 3 in the snails at 4 weeks postexposure (*wpe*), where some of them remained during the experiment. Our data for the location of the immature sporocysts at 4 *wpe* almost agrees with the report by Jourdane and Xia (1987). The number of sporocysts recovered in the snails remarkably decreased towards the tenth and fifteenth *wpe* in *O. h. chiui* and *O. h. nosophora*, respectively, and appeared to decrease more rapidly in *O. h. chiui* than in *O. h. nosophora*. Histological examination of sporocysts was at 6, 12 *wpe* and later. Sporocysts, which appeared to be developing normally at 6 *wpe*, were a thin walled sac containing sausage-shape structures. A host tissue response was not noted (Fig. 3). This result almost agrees with the report by Jourdane and Xia (1987), who found that sporocysts had elongated into a wall sac containing tube-shaped structure. At 12 *wpe* and later, many degenerating sporocysts were found in regions 2 and 3, and were being resorbed by accumulations of amoebocytic or leukocytic-like cells (Fig. 4). In *Biomphalaria glabrata*, a host for *S. mansoni*, Sullivan and Richards (1981) reported that destroyed sporocysts were completely resorbed with only amoebocytic accumulation. In contrast, Lo and Lee (1995) showed that the sporocysts of *S. japonicum*, Han-pao/Taiwan strain in *O. h. formosana* were destroyed by leukocytosis. It need further investigations whether the degeneration of sporocysts are caused by ameobocytic or leukocytic cells. Mature daughter sporocysts had formed by the tenth and fifteenth *wpe* in *O. h. nosophora* and *O. h. chiui*, respectively (Fig. 5). At 18 *wpe*, mature daughter sporocysts in *O. h. nosophora* were recovered from 2, 3, 4, and 5, but those in *O. h. chiui* were not found in region 2 and 5. At 22 *wpe*, mature sporocysts were observed in all region in the snails, and the dense population of mature sporocysts in the mid-gut region (region 5) of the snail was noteworthy. In general, sporocysts in *O. h. nosophora* matured more rapidly in each region than in *O. h. chiui*. Iwanaga *et al.* (1998) reported the most suitable host snail for the Japanese strain of *S. japonicum* was *O. h. nosophora*, which had a shorter cercarial maturation time and higher infection rate than *O. h. chiui*. Cross *et al.* (1984) reported that *O. h. chiui* was the most suitable host snail for the Japanese strain of *S. japonicum*. The result was distinctly different from the reports, which Japanese strain of *S. japonicum* showed higher infection rate for the *Oncomelania* from its own endemic area from the results of Iwanaga (1976a, b) and De Witt (1954). The report of Cross *et al.* (1984) might have been due to lack of technique used during the period of observation. This problem is a debatable point. In this study, the infection rates of *S. japonicum* to *O. h. nosophora* and *O. h. chiui* were 52.8% (66 of 125) and

25.3% (38 of 150), respectively, The results almost agree with the report by Iwanaga *et al.* (1976 a) that snails exposed with 10 or more miracidia always showed the lowest survival and infection rates than those with fewer numbers of miracidia.

The present results strongly suggest that there is a correlation among infection rate, maturation time of cercariae, and distribution of sporocysts in snails infected with *S. japonicum*. Iwanaga (1997) reported the existence of different antigenic structure in five subspecies of *Oncomelania hupensis*. These physiological differences might account for the differences noted in parasite development.

**Key Words :** *Schistosoma japonicum*, *Oncomelania* snails, Sporocyst development

#### REFERENCES

- 1) Cross, J.H., Zaraspa, G., Lu, S.K., Chou, K.M. and Hung, C.K. (1984): Susceptibility of *Oncomelania hupensis* subspecies to infection with geographic strains of *Schistosoma japonicum*. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth, 15, 155-160
- 2) De Witt, W.B. (1954): Susceptibility of snail vectors to geographic strains of *Schistosoma japonicum*. J. Parasitol., 40, 453-446
- 3) Harada, T. (1971): Studies on infection route of *Schistosoma japonicum* to intermediate host, *Oncomelania nosophora*. Jpn. J. Trop. Med. Hyg., 4, 219-233
- 4) Iwanaga, Y. and Tsuji, M. (1972): Fundamental studies on laboratory breeding of *Oncomelania hupensis nosophora*. Hiroshima J. Med. Sci., 20, 1-12
- 5) Iwanaga, Y. (1976a): Observation on the susceptibility of *Oncomelania* spp. to *Schistosoma japonicum*, Yamanashi strain 1. The rates of infection and survival of laboratory colonies of *Oncomelania hupensis nosophora*, Yamanashi strain. Jpn. J. Parasitol., 25, 59-68
- 6) Iwanaga, Y. (1976b): Observation on the susceptibility of *Oncomelania* spp. to *Schistosoma japonicum*, Yamanashi strain 2. The susceptibility of *Oncomelania* spp. of the different geographic strains to *S. japonicum*. Jpn. J. Parasitol., 25, 69-79
- 7) Iwanaga, Y., Shimomura, H., Katayama, S. and Tsuji, M. (1984): Observation on infection of *Oncomelania* spp. to *Schistosoma japonicum* 7. The infectivity of laboratory colonies of *Oncomelania hupensis* to Yamanashi and Leyte strains of *Schistosoma japonicum*. Jpn. J. Parasitol., 33, 23-27
- 8) Iwanaga, Y. (1997): Comparative studies on the antigenic structures of five subspecies of *Oncomelania* snails by immunoelectrophoresis. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 28, 223-229
- 9) Iwanaga, Y., Lee, K.M., Fan, P.C. and Tsuji, M. (1998): Comparative studies for development of three different geographic strains of *Schistosoma japonicum* cercariae in five subspecies of *Oncomelania hupensis*. Jpn. J. Trop. Med. Hyg., 26, 167-171
- 10) Jourdane, J. and Xia, M.Y. (1987): The primary sporocysts stage in the life cycle of *Schistosoma japonicum* (trematoda: Digenea). Trans. Am. Microsc. Soc., 106, 364-372
- 11) Lee, K.M. Fan, P.C. (1982): Studies on susceptibility of new Taiwan foci of *Oncomelania hupensis* to Ilan and Japanese strains of *Schistosoma japonicum*. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 13, 580-583
- 12) Lee, K.M., Lee, Y.M. and Fan, P.C. (1986): Susceptibility of geographic races of *Oncomelania hupensis* to various strains of *Schistosoma japonicum*. Bull. Inst. Zool., Academia Scinica. 25, 47-52
- 13) Lo, C.T. and Lee, K.M. (1995): *Schistosoma japonicum*, zoophilic strain, in *Oncomelania hupensis chiui* and *O. h. formosana*; miracidial penetration and comparative history. J. Parasitol., 81, 708-713
- 14) Sullivan, J.T. and Richards, C.S. (1981): *Schistosoma mansoni*, NIH-SM-PR-2 strain, in susceptible and nonsusceptible stock of *Biomphalaria glabrata*: Comparative histology. 67, 702-708
- 15) Xia, M.Y. and Jourdane, J. (1991): Penetration and migration route of *Schistosoma japonicum* miracidia in the snail *Oncomelania hupensis*. Parasitology. 103, 77-83

# JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

**VOL.28 NO.4 DECEMBER 2000**

## CONTENTS

### Original article

Takaoka, H.

A New Black-fly Species of *Simulium* (Morops) from Luzon Island,  
Philippines (Diptera: Simuliidae) ..... 361-364

Hata, H., Aosai, F., Norose, K., Kobayashi, M., Mun, H-S., Chen, M., Ito, I.,  
Isegawa, N., Ishikawa, M., Mori, S. and Yano, A.

Prevalence of *Toxoplasma gondii* and Other Intestinal Parasites in Cats in  
Chiba Prefecture, Japan ..... 365-368

### Review

Hotta, S.

Dengue Fever and Dengue Virus -A Challenge to Tropical Medicine (in Japanese) ..... 369-381

### Short communication

Mizuno, Y., Hatabu, T., Kawazu, S., Masuda, G., Ohtomo, H., Suzuki, M. and Kano, S.

Cultivation of *Plasmodium falciparum* Isolates Under the Anaeropack® Gas Condition  
in a Portable Thermostatic Incubator ..... 383-385

Iwanaga, Y., Tsuji, M. and Kanno, M.

Development of the Japanese Strain of *Schistosoma japonicum* Sporocysts in  
*Oncomelania hupensis nosophora* and *O. h. chiui* ..... 387-389

