

# 日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

第4巻 第2号

昭和51年9月15日

## 内 容

### 総 説

デング熱ワクチンに関するウイルス学的考察 ..... 藤田 宣哉 99-114

### 原 著

エチオピア南西部における腸管寄生虫並びに住血吸虫の浸淫調査  
..... TEFERRA WONDE, 多田 功, 岩本 功 115-122

奄美大島宇検村の腸内寄生虫調査成績 (英文) ..... 石井 明 123-128

韓国濟州島のマレー糸状虫に関する研究

3 *Brugia malayi* (Che-ju strain) 仔虫と *B. pahangi* 仔虫の体表微細構造 (英文)  
..... 青木 克己, 中島 康雄, 片峰 大助 129-137

脳の黒色真菌症の1例 ..... 西本勝太郎, 森山 忠良 139-146

### 学術記録

九州熱帯医学シンポジウム第6回学術集会講演要旨 ..... 147-156

### 会 報

共同利用熱帯医学研究所設立要望書 ..... 157-160

昭和51年度第1回幹事会記録 ..... 160-161

投稿規定

日熱医学会誌  
Jap.J.T.M.H.

日本熱帯医学会

## デング熱ワクチンに関するウイルス学的考察

藤 田 宣 哉

昭和51年8月20日 受付

デング熱（以下 DEN と略記）は熱帯地方に常在するウイルス性疾患の1つであるが、時に温帯地域に侵入してパンデミーを起こす。わが国においては、1942-1944年に内地に大流行があり（Hotta, 1953）、定型的な患者の総数は20万以上と推定された。これは温帯地方における本病の発生としては疫学史に残る大規模なもの1つである。これを契機としてわが国でも研究が進められるようになった。この他にも1922年アメリカ合衆国南部諸州（Chandler and Rice, 1923; Siler *et al.*, 1926; Siler, 1935）、1925-26年（McCallum and Dwyer, 1927）と1942年（Lumley and Taylor, 1942）に西部オーストラリア、1927-28年ギリシャ（Copanaris, 1928）などの大流行がある。しかしながら元来本病は致死率が低いこと、温帯地に常在しないこと、病原体としての DEN ウイルスが取り扱い上他のウイルスに比べて容易でなかったこと、などの理由から、本病がかなり古くから認識されていたにも拘らず、その研究は他種ウイルスに比べてあまり進展しなかった感がある。しかしながら近年、東南アジア、南太平洋地域において、DEN ウイルスに起因するが、しかし従来の DEN とかなり趣を異にする悪性の出血熱（dengue hemorrhagic fever, DHF）が多発するようになって以来（文献2, 9, 22, 25, 26, 48, 72）、にわかにその重要性が再認識されるに至った。最近においても依然として悪性の DHF が各所に発生しているとの報告がある（文献2, 18, 20, 47, 49, 79, 81, 82, 83, 86, 90）。最近の国際関係の緊密化と共に邦人の熱帯地への旅行・移住に当たって DEN ないし DHF の罹患の機会は増大しつつあり、更に、交通の発達状況から本病の日本内地侵入の危険性も充分考えられるので、

その対応策の確立が真剣に考えられねばならない。

さて、本病の予防策として考えられる点は、まず第1に媒介蚊（*Aedes* 属）の駆除・根絶があり、第2にワクチンがある。本論文ではワクチンに論点を絞って、われわれの行った実験の成績を中心として、いくつかの問題点を考察してみたいと思う。DEN ワクチンの研究は、実は比較的早くから進められており、実験的にある程度の有効性を認めた成績も挙げられていた。例えば古く Blanc and Caminopetros (1930) は患者血液を牛胆汁で処理したものが人体に感染防御力を与えたと報告している。しかし実際に使用するに当たってなお未解決の問題が残されており、広汎な実用化に踏み切れないというのが現状である。本論文においては、いくつかの実験データに基づいて DEN ワクチンの可能性を探ってみたいと考える。

DEN の全般的な事項については、いくつかの総説を参照されたい（文献1, 8, 11, 21, 33, 42, 44, 70, 85）。

## 弱毒株ウイルス

DEN ウイルスの分離は、第2次大戦中、日本ならびに米国の研究者が、マウス脳内接種法を用いて成功した。しかし戦中一戦後の特異な事情から、当時分離されたウイルス株の殆どは失われ、現在保持されているものは極めて限られている。ここに紹介する望月株は1943年に長崎の流行で患者のヘパリン血からマウス脳内接種により分離され、以来マウス脳継代を繰り返し今日に至ったものである（木村・堀田, 1944; Hotta, 1952）。この望月株は世界に現存する DEN ウイルスとして最も古いものとされている。

このマウス脳通過望月株ウイルス（具体的には感染マウス脳の乳剤）をヒトの皮内に注射すると、ある世代までは定型的な DEN 症状を起こすが、世代を経ると共に次第に病原性が減弱し、ついである世代以後にはヒト病原性が完全に消失した（堀田, 1950; Hotta, 1965）。その経過を模式的に示すと Fig. 1 の通りとなる。言い換えれば望月株はマウス脳通過を繰り返すうちにヒトに対する病原性ないし起病性を減弱消失したとすることが出来る。この virulent から avirulent への変化の機序についてはいくつかの可能性を考えることが出来るが、恐らくウイルス自体の変異とマウス脳通過による選択の組み合わせによるのではないかと推定している。

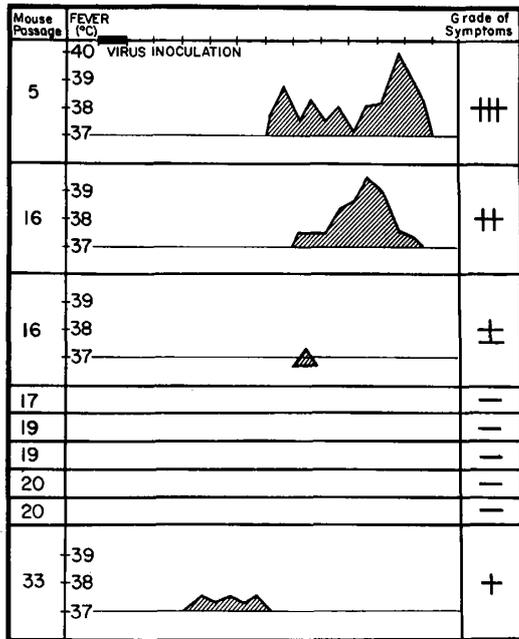


Fig. 1 Change of human pathogenicity of dengue virus (type 1 Mochizuki strain) in course of serial mouse brain passages (Reproduced from references 32, 33).

上記のようなヒトに対する病原性の変化と共に、マウスに対する感染所見にも変化が認められた（堀田, 1950）。マウス脳継代初期では潜伏期は不定であり、死亡率も一定しなかったが、ヒト病原性の減弱する10数代の時期から死亡率および潜伏期が一定化するようになった。剖検上、出血性変

化の頻度および強度が減弱し、これに反して麻痺症状のそれが増大する傾向を示した。また、継代初期に認められた viremia も通過世代を重ねると共に、次第に検出困難となった。要するに、ヒト病原性の変化とマウス感染所見の推移とがよく平行した。これはウイルスの病原性を考える上で興味ある事実である。

このように modify された望月株ウイルスは免疫原性を保持しており、これをヒトの皮内に注射すると血中に特異的中和抗体の産出がもたらされる (Fig. 2)。同じウイルス材料をホルマリンで不活化したものを、同じ条件で与えても抗体の産生は殆どないか、極めて微弱であることから、上にみられた抗体の産生は、本ウイルスによる“感染”の結果と推定される。ただし、この成績から直ちにホルマリン不活化ウイルスの免疫原性が無いと結論するのは早計であろう。これはあくまで一定の条件下における生ウイルスと不活化ウイルスと

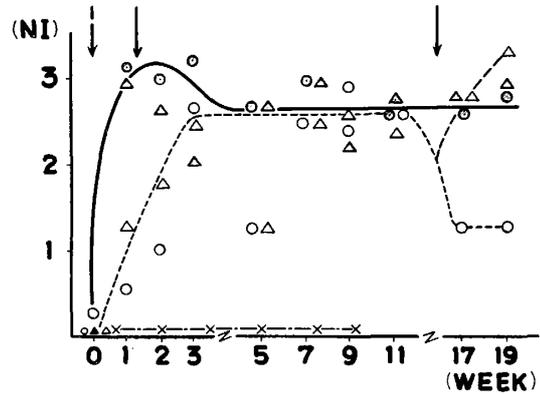


Fig. 2 Anti-DEN NT antibodies produced after injections of live modified DEN virus (type 1 Mochizuki strain).

Ordinate represents antibody titers expressed by logarithmic number. Abscissa represents observation period, in weeks. Black marks indicate individuals with previous history of DEN, and white marks those with no history of DEN. The third injection was made only into a volunteer represented by white triangles. × indicates a control volunteer injected with formalinized virus (Reproduced from references 29, 32, 33).

TABLE I DEN vaccination experiments using live modified virus

Exp. series	Group	Volunteer		Abnormal clinical signs following vaccination	Production of NT antibody following vaccination	Degree of infection induced by challenge
		Sex	Age			
I	Vaccinated	M	21	—	+	±
		M	25	—	+	—
	Control	M	34			+++
II	Vaccinated	F	17	—	+	—
		F	26	—	+	+
		M	27	—	+	—
	Control	F	44			+++

(Reproduced from references 29, 32, 33)

の比較ということであって、ホルマリンワクチンの可能性については別途に考究すべきである。

このように本株ウイルスは血中中和抗体の産生をもたらすのみでなく、これを注射されたヒトは強毒な未変異ウイルスの攻撃（具体的には有熱患者血清の注射）に抵抗し、その発症が阻止された（Table 1）。これは本弱毒ウイルスによる感染防御が成立することを示すものであり、従って生ワクチンの可能性が示唆された。

### 組織培養されたウイルス

DEN ウイルスの組織培養ははじめてアカゲザル腎初代培養細胞で成功をみた（Hotta and Evans, 1956 a, b; Hotta, 1959）。現在では幾種かの培養細胞が DEN ウイルスの増殖を許すことが知られており、そのなかには CPE, プラーク形成の明瞭な系もある。初代培養細胞では、サル腎、ハムスター腎、継代株細胞では BHK（ハムスター腎由来）、VERO, BSC-1（アフリカミドリザル腎由来）、LLCMK2（アカゲザル腎由来）などが比較的良好的な成績を収めることが経験上知られている。しかし DEN の組織培養については、他種アルボウイルス、とくに A 群ウイルス（たとえば chikungunya ウイルス）に見られるような高力価のウイルスを比較的短期間に得ることは未だ達成されておらず、この点が DEN 研究の 1 つのネッ

クともなっている。最近当教室で、株化された IMR 細胞（ヒト neuroblastoma 由来）、J-111 細胞（ヒト leukemic leucocyte 由来）が DEN ウイルスを比較的よく増殖させることが確認されたが（白木ら, 1975, 1976）、今後の検討の価値がある知見である。

ウイルスワクチンの素材を組織培養由来のものに求めるのは最近の傾向からみて当然のことであるが、しかしこの点に関して上記の株細胞は必ずしも適格ではない。その理由は、これらの細胞が腫瘍原性を有するからである。従って、ワクチン材料という立場から考える限り、サル腎初代培養細胞またはヒト 2 倍体株細胞を使用すべきである。われわれはこの両者について検討を試み、引き続き研究を進めているが、まず第 1 段階としてニホンザル腎初代培養細胞の感染培養液を材料として以下の実験を行った。

**サルにおける実験：** 実験に用いたサルは全て、日本モンキーセンターより入手した 3 歳以下の雄ニホンザル (*Macaca fuscata*) で、日本内地で生育し、DEN との接触は全くないと考えられる。これに DEN 感染培養液 ( $10^4$ - $10^6$  マウス LD<sub>50</sub>) を生きた状態で皮内に注射すると著明な抗体産生をもたらした (Fig. 3)。産生された抗体価は、本実験に用いられたウイルス量の範囲内に関する限り、接種ウイルス量に無関係であった。また、ホルマリン不活化ウイルスでは抗体産生はみられな

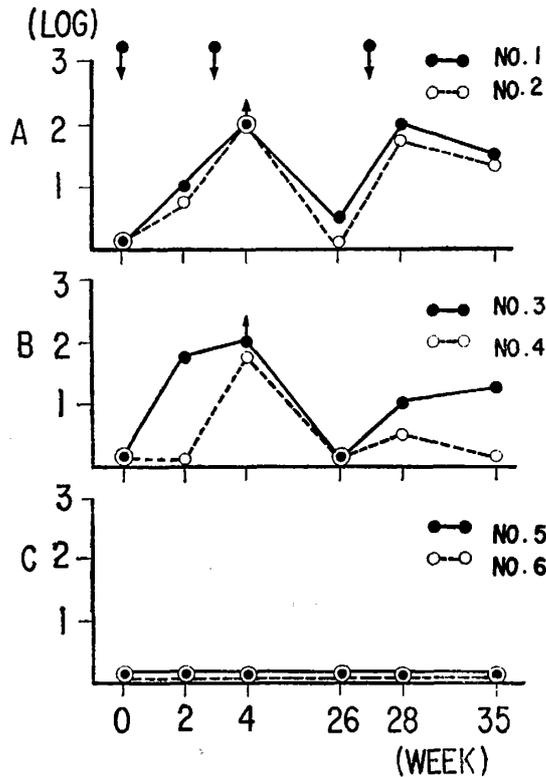


Fig. 3 Production of anti-DEN NT antibody in *fuscatus* monkeys inoculated with DEN virus of monkey kidney tissue culture origin.

Ordinate represents antibody titers expressed by logarithmic number. Abscissa represents observation period, in weeks. Two monkeys in group A were inoculated intracutaneously with undiluted live virus, two in group B with 100-fold diluted live virus, and two in group C with formalinized virus (Reproduced from references 33, 37).

かった (Hotta *et al.*, 1966)。これらの事実は、活性ウイルスが一種の無症状感染を起こさせ、その結果として中和抗体の産生をもたらしたとの推定を可能ならしめるものである。ただし、前述したように、これらの成績が必ずしもホルマリン不活化ウイルスの能動免疫原性を否定するものではなく、諸種の条件を考慮すればその有効性を期待することも可能であり、今後の課題の1つである。

**ヒトにおける実験:** 本株ウイルス (約 $10^{4.0}$  マウス  $LD_{50}$ ) を皮内に注射された個体は良好な抗

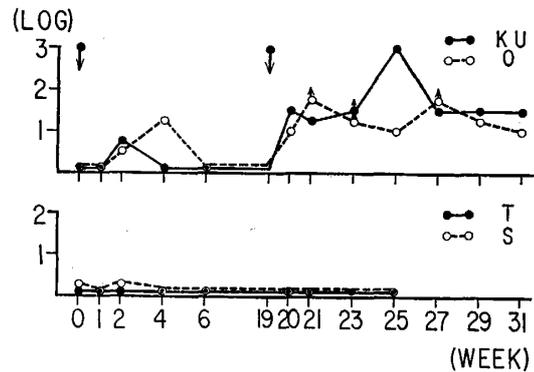


Fig. 4 Production of anti-DEN NT antibody in humans inoculated with DEN virus of monkey kidney tissue culture origin.

Two adults in the upper diagram (KU and O) were inoculated with live virus, and in the lower diagram, T with formalinized virus, and S with non-infected culture fluid. Other legends are the same as those in Fig. 3 (Reproduced from references 33, 37).

体産生を示した (Fig. 4)。この場合もホルマリン不活化ウイルスの抗体産生は極めて弱かった。注射後に血球数、白血球百分比などにも特別な異常所見は認められず、その他発熱、悪心、頭痛、腰痛などの DEN 感染を思わせるような症状は全く観察されなかった (Hotta *et al.*, 1966)。これらのことから望月株ウイルスは組織培養通過後もよく免疫原性を保持し、しかも完全に人体無毒性であるとみなすことが出来る。

**黄熱ウイルスとの混合免疫:** 上記の組織培養された弱毒化望月株ウイルスと黄熱 (YF) ワクチン (17D 株) をヒトの皮内に併用注射すると両者に対する抗体 (中和ならびに赤血球凝集抑制抗体) が産生された (Fig. 5, Fujita *et al.*, 1969)。ただしこの場合、成績を詳細に検討すると、次のような事実が認められる。1) 両ウイルスを同時に注射した場合、抗 DEN 抗体の産生が幾分抑制される。2) 両ウイルスを2週間隔で相前後して注射すると、後に与えたウイルスに対する抗体の産生が抑制される。これらの傾向は中和抗体、赤血球凝集抑制抗体のいずれについても同様にみられた。Schlesinger *et al.* (1956) は、ヒトにマウス脳通過 DEN-2 と YF ウイルス (17D 株) を同

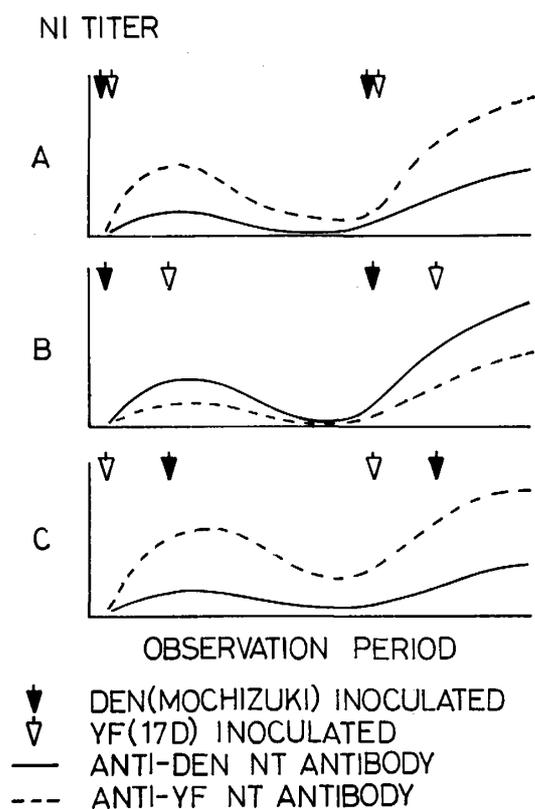


Fig. 5 Schematic illustration of anti-DEN and YF antibody production patterns in human subjects after receiving combined inoculations of attenuated DEN virus (type 1 Mochizuki strain) and YF vaccine (17D strain).

Ordinate indicates antibody titer (NT) and abscissa indicates observation period. In group A, DEN and YF viruses are inoculated simultaneously; in group B, DEN is inoculated first and YF two weeks later; and in group C, YF is inoculated first and DEN two weeks later (Reproduced from reference 34).

時に注射し、その結果抗 DEN-2 抗体が主として産生され、抗 YF 抗体は抑制されるという成績を得て、この機序を干渉現象に帰している。このように DEN と YF はある条件で互に抑制し合うことがあり得るようである。かような干渉現象は、ウイルス相互間のいわゆる競合によるものか、それともインターフェロンの産生に基づくものであるかについては今後に残された問題である。いず

れにしても DEN と YF の混合免疫については、接種の経路や時期など具体的な条件を考慮すれば、確実に成立することが可能であると考えられ、今後実用的な見地から検討の価値がある。

### 抗体産生機序の究明

抗体産生を組織培養によって証明せんとする実験は、方法論的に次の2つに区別される。第1の方法は、体外に摘出培養された組織に直接抗原を加えて抗体産生をみるものである (Bussard, 1967)。第2の方法は、予め動物に抗原を与えて免疫した後に組織を摘出培養し、抗体産生を検討する方法である。これに関する過去の知見およびその評価については、既にいくつかの総説がある (文献19, 39, 40, 50)。

われわれは第2の方法に従い、DEN とニホンザルの組み合わせで、抗 DEN 抗体産生機序の一端を解明することを企画した (Fujita *et al.*, 1972)。上記 DEN 感染組織培養液をサルの皮内に注射し、4~7日後に臓器 (脾、リンパ節、肺、肝、腎、睾丸) を摘出し、プラズマ包埋培養法によって培養を行い、時を追ってその培養液の中和抗体価を測定した (Fig. 6)。

抗体は脾、リンパ節、肺、肝の培養で比較的高い力価を示し、睾丸のそれは極めて低く、腎の培養ではロットにより変動が著しかった。ホルマリン不活化ウイルスを与えられたサルの臓器の培養では抗体は認められなかった。中和能を示す培養液を蔗糖濃度勾配遠心によって分画すると、培養初期における中和能は主として 19S 分画 (2-ME 感受性) に出現し、培養が進むに従って 7S 分画 (2-ME 抵抗性) の中和能が優勢になることが証明された。この知見から、培養液中にみられる中和能はまさしく免疫グロブリンであり、それらは DEN ウイルスの注射により *de novo* に産生されたと推定される。この実験は、DEN ウイルス対サルという自然感染系との観点から進められたことに意義がある。抗体産生に関する細胞の種類についての厳密な同定は本実験ではなされなかったが、しかし脾、リンパ節による抗体産生が良好

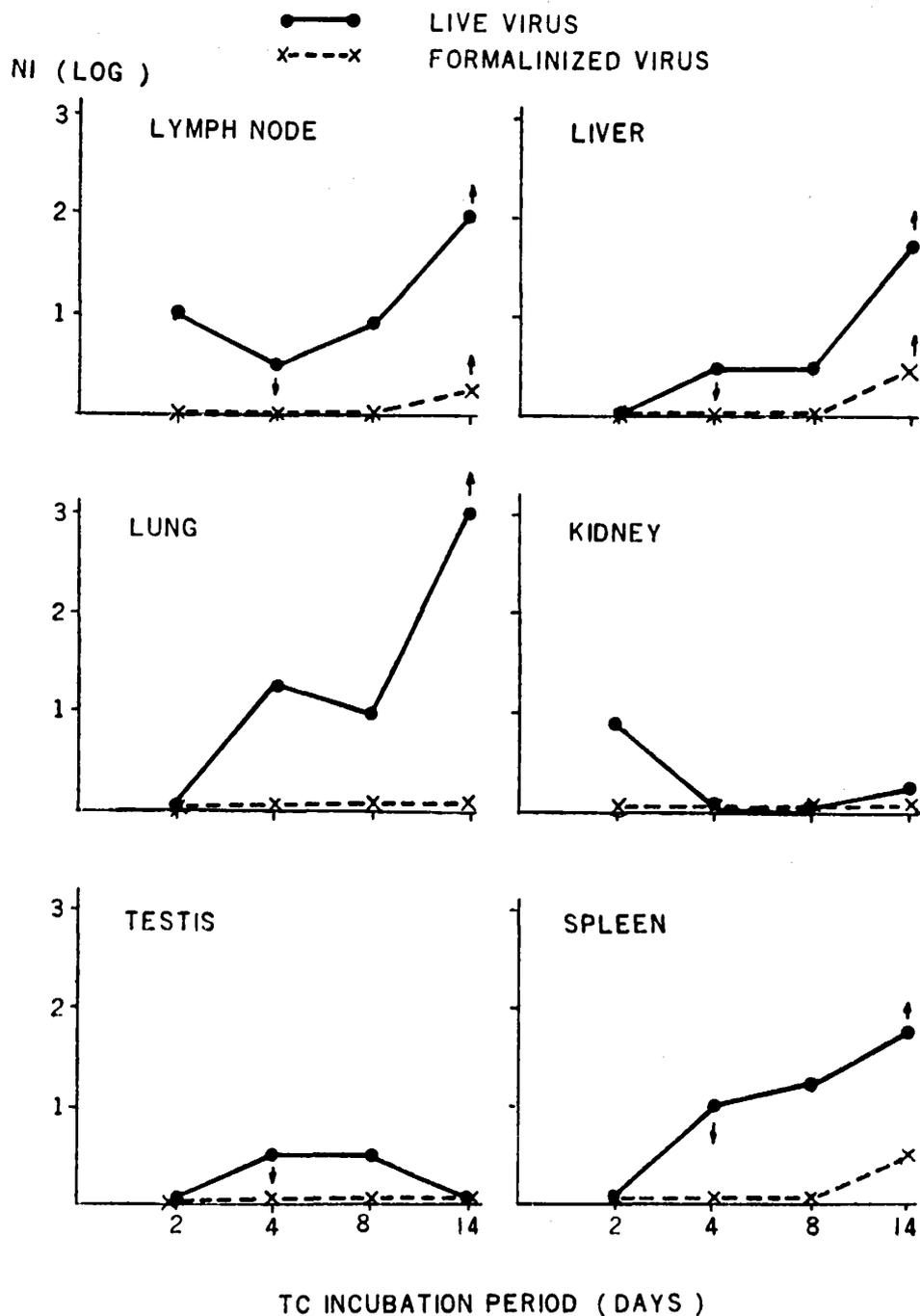


Fig. 6 Neutralizing activities of tissue culture fluids from monkeys inoculated with live or formalinized DEN virus.

Ordinate indicates anti-DEN neutralization indicates (in log), and abscissa indicates period of tissue culture incubation in days (Reproduced from references 12, 33).

であった事実は、これらの組織を構成するリンパ球ないしはそれに類縁の細胞が抗体産生の主役を演じたことを推論させるものである。

### 精製ウイルス分画

ワクチン接種に際し、ウイルスを精製し、精製ウイルス粒子、または特殊の有効成分を抽出して使用することは一層合理的と考えられる。この目的のための精製手技について検討を加えたが、ウイルス粒子に与える影響が比較的少なく、しかも簡便なものとして Figs. 7, 8 に示される方法を用いている。

この方法に従いウイルスの精製を行うと、3種の分画が認められる (Fig. 9)。すなわち、蔗糖濃度勾配遠心上、速く沈降する感染性、HA 活性を有する分画、遅く沈降する高い HA 活性を示す中央的分画、最も遅く沈降する CF 活性で示される分画 (この分画は HA 活性はないか、または極度に低い) の3分画に分かれる。マウス脳、組織培養由来のいずれのウイルス材料においてもほ

ぼ同じ成績が得られる。これら分画は再遠心することにより、更に純粋にすることが出来る。因みにこれら分画の density は、組織培養由来のウイルス材料の蔗糖濃度勾配遠心によると、最も速く沈降する左の分画で 1.20-1.21g/ml、遅く沈降す

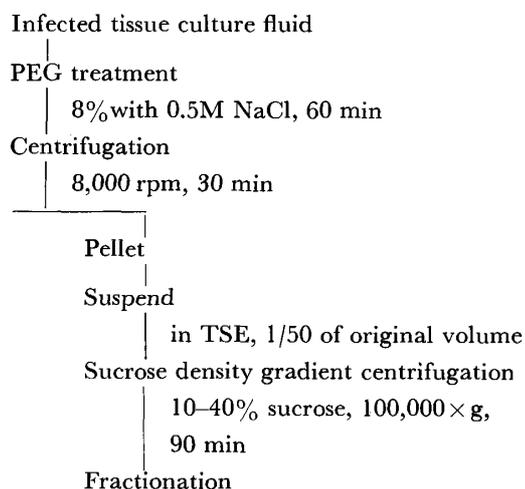


Fig. 8 Schematic presentation of the procedures used for the purification of the virus grown in LLCMK2 cell cultures.

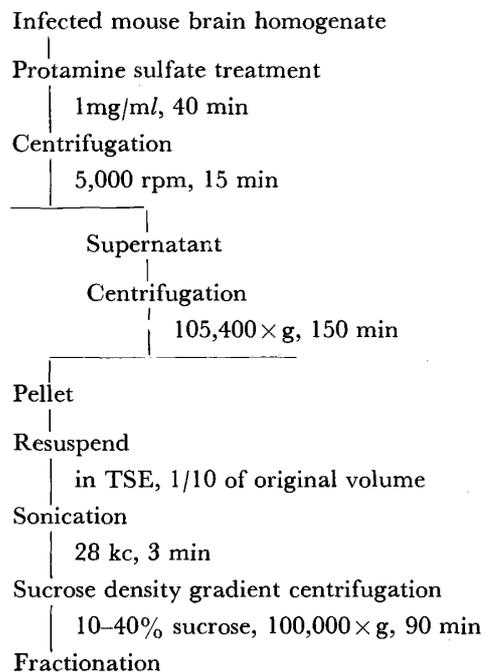


Fig. 7 Schematic presentation of the procedures used for the purification of the virus grown in suckling mouse brain.

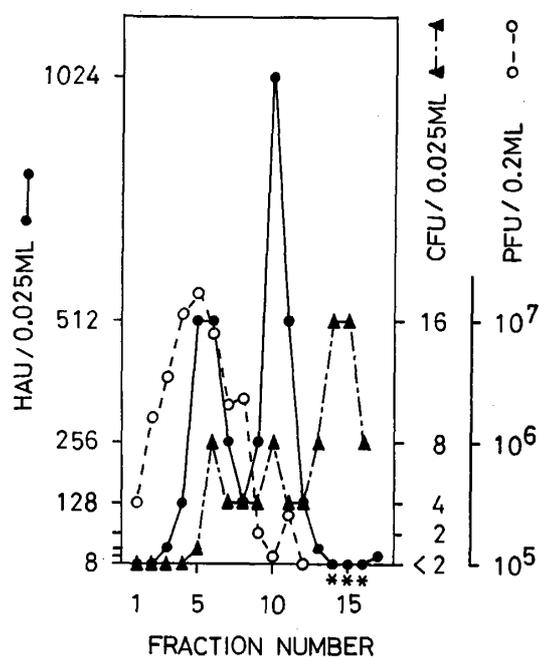


Fig. 9 Sucrose density gradient centrifugation profiles of viral samples.

\* below 2 HAU/0.025 ml

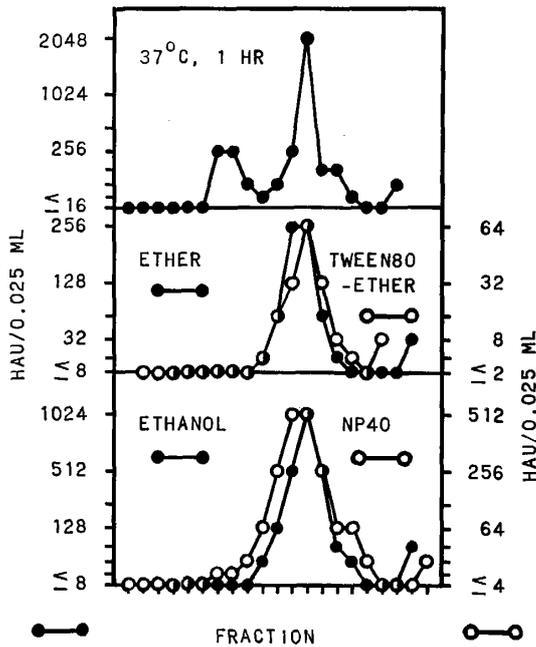


Fig. 10 Sucrose density gradient centrifugation profiles of viral samples after being treated with physical and chemical agents.

る中央の HA 分画で 1.18-1.19g/ml である (Fuji-ta *et al.*, 1974)。アルボウイルス、とくに B 群ウイルスに関する Stollar *et al.*, 1966, Matsumura *et al.*, 1967, Smith *et al.*, 1970, Cardiff *et al.*, 1971 の成績と合せ考えると、Fig. 9 のプロフィールの左からそれぞれウイルス粒子、赤血球凝集素、non-structural CF component であろうと推定される。ウイルスをエーテル、Tween 80・エーテル、NP40 などで処理すると左の分画が検出出来なくなる (Fig. 10)。

これらの成績を基にして、活性を異にする 3 種の分画 (Table 2) を得、それぞれ Immunogen-I,

II, III とし、それらの免疫原性をサルまたはウサギで検討した。サルの場合は、DEN ウイルスによる感染をきたすので、Immunogen-I, II の注射のみにとどめ、Immunogen-III (感染性を有する分画) の注射は行わなかった。他方、ウサギは DEN の感染を起こさないと考えられているので、供試 Immunogen 3 種の全てを感染性の有無にかかわらず使用した。注射後時を追って血清を採取し、その抗 DEN 抗体を測定した。その成績は Figs. 11, 12 にまとめられている。これによると、

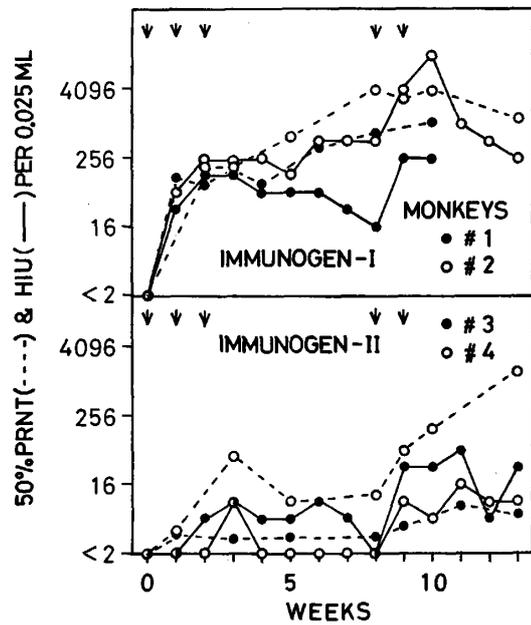


Fig. 11 Production of anti-DEN antibodies in monkeys receiving inoculation of immunogens.

Ordinate indicates titers of antibodies, and abscissa indicates period of observation in weeks. Arrow indicates time of immunogen inoculation.

TABLE 2 Viral specific activities of immunogens

Immunogen	Infectivity	HA	CF
I*	+	+	+
II**	-	+	+
III***	+	-	+

\* Rapidly sedimenting component

\*\* Slowly sedimenting component from ether treated sample

\*\*\* More slowly sedimenting CF component

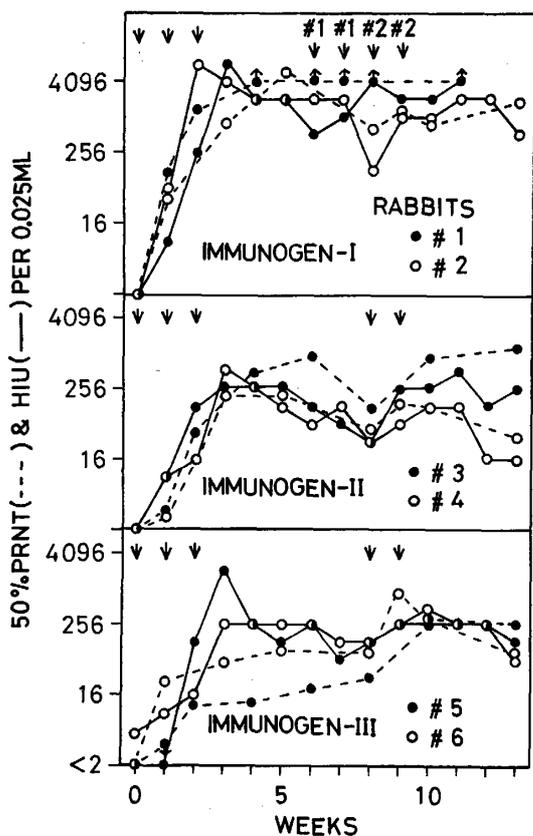


Fig. 12 Production of anti-DEN antibodies in rabbits receiving inoculation of immunogens.

Legends are the same as those in Fig. 11.

何れの分画を注射した動物においても抗体の産生が明瞭にみられ、そのパターンは3分画の何れについても同様である。しかし産生された抗体の力価は、3種分画の間で異なっており、Immunogen-Iによる抗体産生が比較的強いという傾向を示した(藤田ら, 1972; Fujita *et al.*, 1976)。

Immunogen-IIIはHA活性を欠くことを確認して使用されたのであるが、その注射によって明らかにHI抗体の産生がみられた。それに対する説明はわれわれの成績からのみでは充分につけられないが、1つの解釈として、HANinには不完全な形のものが存在し、それはHA活性を有しないが、抗原性(HI抗体産生をもたらす能力)を有するのであるという可能性が考えられる。何れにしても供試された3種の分画は明らかな抗

体産生能をもつことが確められた。この知見は精製生ウイルスワクチン、あるいは非感染性のcomponent vaccineを考慮する上に有用であろう。

### ヒト2倍体細胞に培養されたウイルス

ワクチンの安全性・無害性を考えるとき、当然のことながら、ウイルスを増殖させる宿主細胞の安全性・無害性が考慮されねばならない。著者らのグループは過去にDENワクチンの安全性を意識して、ニワトリ胎児初代培養細胞(CE細胞)でDENウイルスの培養を試みたが、この試みは現在のところ実りのある結果を得ていない。DENウイルスはCE細胞培養で生き延び(survive)はするけれども、明瞭な増殖を示さないのである(Hotta *et al.*, 1961)。本稿の論点からは外れるが、この所見は多くのアルボウイルスがCE細胞で良好な増殖を営む事実に対比して、むしろ特異な現象である。その理由は現在のところ明らかでないが、副次的な意義として、DENウイルスと他のアルボウイルスとの鑑別として、種々の点でDENウイルスによく似ているYFウイルスとの鑑別法の1つに利用することが可能であろうことを付言しておく。

しかしながら望月株ウイルスはヒト胎児肺由来2倍体細胞WI-38(Hayflick and Moorhead, 1961)で増殖する(Shiraki and Hotta, 1975; Fujita *et al.* 1976)。ただしその増殖の速度は、われわれの採用した条件に関する限り、かなり遅い。元来DENウイルスの培養細胞での増殖速度は比較的遅いのであるが、この系ではその傾向が特に著しい。しかし得られたウイルス力価( $10^4$ - $10^5$ PFU/ml)はヒト、あるいはサルに注射して抗体を産生させるのに十分なものである。今後培養条件を検討改良して、本系でのウイルス収量を向上させるべく努める必要がある。

### 要 約

われわれの保持しているDEN-1望月株はヒト弱毒株であり、これを活性のままヒトの皮内に注

射すると、その後明瞭な抗 DEN 抗体を産生させ、また、強毒な DEN ウイルスの攻撃に対する防御を与える。本ウイルスをサル腎初代培養細胞に継代しても、上記のヒト無毒性、免疫原性は変わらない。本ウイルスと YF ワクチン (17D 株) とを同時に、または時を隔ててヒトに注射すると、両種ウイルスに対する抗体が産生される。すなわち DEN-YF 混合免疫が可能である。これらのことは人体について実験的に繰り返し証明された。この知見は抗 DEN 生ワクチンの可能性、および DEN-YF 混合ワクチンの可能性を開いたものと考えられる。

かような無毒化変異月ウイルスを一定の処理によって精製し、あるいは、それから特定の分画を作ってみると、これも同様な免疫原性 (抗体産生能) を示した。この実験はサル、あるいはウサギを用いてされたが、従来のわれわれの経験から類推して、おそらくヒトについても成立するであろうと考えて誤りはあるまい。したがって精製ワクチンあるいは component vaccine の可能性が示唆される。

本ウイルスはヒト胎児肺 diploid 細胞に増殖する。この事実は本ウイルスを人体用ワクチンとして使用するに当たっての安全性の問題に 1 つの解答を与えるものである。将来ヒト用ワクチンの生産は、ヒト 2 倍体細胞を用いて行われる傾向にあると考えて間違いないであろう。WI-38 細胞は WHO (1972) の基準に基づき、ワクチン作製のための細胞系の 1 つにされている。

一方、アメリカの Sabin and Schlesinger (1945) の分離した Hawaiian 株ウイルス (1 型) についても人体無毒化が証明されている (Sabin and Schlesinger, 1945; Sabin, 1950)。Wisseman *et al.* (1963) は 1 型ウイルスの別の変異株を得ている。また 2 型ウイルスについても人体弱毒株が得られている (Schlesinger *et al.*, 1956)。これらのウイルス株を用いての野外実験の報告もある。例えば Wisseman らは Puerto Rico での流行に際して DEN-1 ウイルス弱毒生ワクチンを住民に注射したところ、流行の終息が有意に促進されたと報告している (Bellanti *et al.*, 1966; Wisseman,

1966)。DEN のように感染から発病の過程に viremia を経る感染症の場合には、血中抗体の存在が viremia の阻止に働き発病の有無またはその程度に大きく関係すると考えられる。これに従えばワクチン接種による血中抗体の形成が DEN の予防に有効であるとの考え方も成り立つ。

Tarr *et al.* (1976) はワクチン開発を目的として 2 型ウイルスの温度感受性変異株 (ts-mutant) を人為的に選択する実験を行い、それが親ウイルスに比しマウスの致死率の低下、サルにおいては viremia 誘起性の消失を示したことを認めた。この場合抗体産生能は親ウイルスと同様に保持されたと述べている。かような ts 変異とヒト無毒性とが直接結びつくかどうかは未だ不明であるけれども、今後人為的にワクチン株を獲得するための基礎的検討としてさらに研究を進める必要があろう。

これらの実験的事実から DEN のワクチン、特に生ワクチンの作製は充分可能であると考えることが出来る。

しかしながらこれを実用化するためには解決せねばならないいくつかの問題がある。まず第 1 点は、DHF の病因に関することである。現在 DHF の病因はなお確実に明らかにされていないけれども、いわゆる hypersensitivity 説が提唱されていることは周知の通りである。アメリカの Halstead ら (1970)、Russell ら (1969)、Russell (1970, 1971) によれば DEN およびそれに近縁のウイルス、特に型を異にする DEN あるいは B 群アルボウイルスのいくつかに連続して罹患した後に、一定の条件下に一種の hypersensitivity 状態が形成され、それが重篤な出血・ショックの症状として発現されるのであるという (文献 64)。その根拠として彼らは DHF 患者において血清中の IgG が増加し、補体、とくに C3 成分が減少することを立証している。すなわち、出血現象とショック症状の説明として antigen-antibody complex が補体を消費し、これが血小板減少、更にある種の anaphylatoxin の産生をもたらし、ショックにつながるという仮説が提唱されている。Primary DEN infection に起因すると考えられる幼児の DHF について Halstead (1975) は、DEN の免疫

を有する母親から幼児に immunologic material が移行されると述べている。しかしこれが果して何であるかは今のところ明確ではない。もしこの hypersensitivity 説が正しいものとするれば、ワクチンの接種は慎重になされねばならないであろう。この解決策の1つを示唆するものとして、DEN の4つの型の全て、および近縁のアルボウイルスのいくつかを組み合わせ、これを特定の順序と間隔で与えることにより、多数のアルボウイルスに対する combined immunity を形成することが可能であるという説がある。この場合 DEN ウイルスが key virus の1つとなることが考えられている。Price *et al.* (1957, 1961, 1963, 1968, 1971 a, b, 1972, 1973 a, b, 1974) や Parks *et al.* (1958) は上記の着想に従ってサルを用いて一連の実験を行い、このことをある程度証明している。

他方、この hypersensitivity 説に必ずしも同調しない考え方もある (Barnes Winton *et al.*, 1974; Rosen, 1975)。その根拠としては、DEN が今まで存在していなかった地域に発生したいわゆる primary infection の症例にも DHF の典型的なものが少なからず発見されるという事実が挙げられる。例えば、日本内地の流行においても強い出血や虚脱症状の認められた例が少なくなく、また剖検上強度の出血性変化の証明された例もある (木下・宮地, 1944)。もしそうだとすれば DHF の成立は hypersensitivity 以外の要因の成立も考えなければならぬであろう。箴島 (1943, 1943 追加復刊) は DEN 患者に副腎皮質機能の低下のあることを推定しているが、かような病態生理学的変化も考慮すべきであろう。それと同時にウイ

ルスの毒力という要因も無視出来ない。すなわち、ウイルスの株、または型によってヒトに対する毒力の差があることが当然予想されるので、特定の株が DHF を多発させるという考えも完全には否定出来ないであろう。ただしこのウイルス毒力説については現在実験的な根拠が乏しく、今後の検討に待たねばならない。そのためには自然界の材料から分離された多数のウイルス株、しかもマウスや組織培養通過をあまり繰り返していない株について、毒力の marker を確立することが第1の問題である。このことは現在実験的に確立されていないけれども、今後検討を要する課題である。

このように DEN ワクチンを実用化するためには単にワクチン素材に関する検討のみでなく、個体の免疫学的応答とか、ウイルスの毒力とかに関する考慮が必要であって、今後多方面からの総合的な検討が進められる必要がある。しかしそのような問題点はあるにしても、DEN ワクチンの必要性は当然のことであり、将来広範な基礎的ならびに臨床的・疫学的研究の進展が望まれるのである。

## 謝 辞

終りに臨み、本研究の遂行に当たり、貴い人体実験の対象となって下さった方々に深謝の意を表します。ならびに本研究の遂行、本報の作製に当たり、懇切なご指導とご校閲をいただいた堀田進教授、本研究にご協力いただいた関係方面、ならびに教室員各位、直接ご協力いただいた田村正子氏に対し深謝の意を表します。

## 文 献

- 1) Armstrong, C. (1923): Dengue fever, Publ. Hlth. Rep., 38, 1750-1784
- 2) Barnes Winton, J. S. and Rosen, L. (1974): Fatal hemorrhagic disease and shock associated with primary dengue infection on a pacific island, Amer. J. Trop. Med. Hyg., 23, 495-506
- 3) Bellanti, J. A., Bourke, A. T. C., Buescher, E. L., Cadigan, F. C., Cole, G. A., Banawi, Y. El, Hatgi, J. N., McCown, J. M., Negron, H., Ordonez, J. V., Scheider, F. G., Smith, T., Warram, J. H. and Wiseman, C. L. Jr. (1966): Report of dengue vaccine field trial in the Caribbean, 1963: A collaborative study, Bull. Wld Hlth Org., 35, 93
- 4) Blanc, G. and Caminopetros, J. (1930): Recherches expérimentales sur la dengue, Ann. Inst. Pasteur (Paris), 44, 367-436

- 5) Bussard, A. E. (1967): Antibodies: Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 32, 465-475, Primary antibody response induced *in vitro* among cells from normal animals
- 6) Cardiff, R. D., Brandt, W. E., McCloud, T. G., Shapiro, D. and Russell, P. K. (1971): Immunological and biophysical separation of dengue-2 antigens, *J. Virol.*, 7, 15-23
- 7) Chandler, A. C. and Rice, L. (1923): Observations on the etiology of dengue fever, *Amer. J. Trop. Med.*, 3, 233-262
- 8) Cleland, J. B. (1930): Dengue fever, In *System of Bacteriology*, London, HM Stationary Office, 7, 376-385
- 9) Cohen, S. N. and Halstead, S. B. (1966): Shock associated with dengue infection, I. Clinical and physiologic manifestations of dengue hemorrhagic fever in Thailand, 1964, *J. Pediat.*, 68, 448-456
- 10) Copanaris, P. (1928): L'épidémie de dengue en Grèce au cours de l'été 1928, *Bull. Off. Internat. Hyg. Publ.*, 20, 1590-1601
- 11) Doerr, R. (1930): Pappataciefieber und Dengue, In *Kolle-Wassermann's Handbuch d. Pathogen. Mikroorgan.*, Kolle, W., Kraus, R. & Uhlenhuth, P., (eds.): Jena, Fischer, VIII, 501-546
- 12) 藤田宣哉 (1976): デング熱ワクチンの試み, *感染症学会誌*, 50, 47
- 13) Fujita, N., Izaki, S., Oda, K., Kimura, E. and Hotta, S. (1972): Research on dengue in tissue culture. V. Production of anti-dengue antibodies in tissue cultures from monkeys inoculated with an attenuated type 1 dengue virus strain, *Kobe J. Med. Sci.*, 18, 143-152
- 14) Fujita, N., Karabatsos, N., Shope, R. E. and Hotta, S. (1974): Separation of dengue virus components and some of their biologic and immunologic activities, Joint Conference on Viral Diseases, The Japan-US Cooperative Medical Science Program, Tokyo
- 15) Fujita, N., Oda, K., Yasui, Y. and Hotta, S. (1969): Research on dengue in tissue culture. IV. Serologic responses of human beings to combined inoculations of attenuated, tissue-cultured type-1 dengue virus and yellow fever vaccine, *Kobe J. Med. Sci.* 15, 163-180
- 16) 藤田宣哉, 田村正子, 堀田進 (1972): デング熱ウイルス (1型) 精製粒子から得られた二, 三の分画の抗原性——とくにウサギおよびサルにおける抗体産生のパターンについて, 第20回日本ウイルス学会総会, 大阪
- 17) Fujita, N., Tamura, M. and Hotta, S. (1976): Immuno-biological studies on dengue. I. Immunogenic effects of partially purified dengue-1 virus and some of its components, *Kobe J. Med. Sci.*, 22, 211-228
- 18) George, R., Kassim, M. S. and Lim Tiong Wah. (1974): Mosquito-borne haemorrhagic fever, *Med. J. Malaysia*, 29, 11-16 (Cited from *Trop. Dis. Bull.* 72, 697, 1975)
- 19) Grabar, P. and Corvazier, P. (1960): Formation of antibodies *in vitro*, Ciba Foundation Symposium on Cellular Aspects of Immunity, J. & A. Churchill Ltd., London, 198-212
- 20) Gubler, D. J. (1976): Dengue hemorrhagic fever in Jakarta, Indonesia, *Arbo-Info. Exchange*, No. 31, 82-87
- 21) Haagen, E. (1963): Dengue, In *Viruskrankheiten des Menschen*, 1, 609-632
- 22) Halstead, S. B. (1966): Mosquito-borne haemorrhagic fevers of South and South-East Asia, *Bull. Wld Hlth Org.*, 35, 3-15
- 23) Halstead, S. B. (1975): Leukocyte infection by non-neutralizing virus-antibody complexes: A possible mechanism in the immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever, Abstract, *International Virology 3*, Third International Congress for Virology, Madrid, pp. 215
- 24) Halstead, S. B., Udomsakdi, S., Simasthien, P., Singharaj, P., Sukhavachana, P., Nisalak, A., Nye, S. W., Vinijchaikul, K., Nimmannitya, S., Cohen, S. N. and Fischer, D. B. (Collaborative study), (1970): Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever, Parts I-VI, *Yale J. Biol. Med.*, 42, 261-362
- 25) Hammon, W. McD. (1969): Observations on dengue fever, benign protector and killer: A Dr. Jekyll and Mr. Hyde, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 18, 159-165

- 26) Hammon, W. McD. (1973): Dengue hemorrhagic fever — Do we know its cause? *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 22, 82–91
- 27) Hayflick, D. and Moorhead, P. S. (1961): The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, 25, 585–621
- 28) 堀田 進 (1950): デング熱の研究, マウス脳通過によるヴィールスの性状の変化について, *東京医事新誌*, 67, 19–22
- 29) Hotta, S. (1952): Experimental studies on dengue. I. Isolation identification and modification of the virus, *J. Infect. Dis.*, 90, 1–9
- 30) Hotta, S. (1953): Dengue epidemics in Japan 1942–1945, *J. Trop. Med. Hyg.*, 56, 83
- 31) Hotta, S. (1959): Propagation of dengue virus in tissue culture, *Acta Trop.*, 16, 108–150
- 32) Hotta, S. (1965): Twenty years of laboratory experience with dengue virus, In *Medical and Applied Virology*, 228–256, Sanders, M. and Lennette, E. H., (eds.), Warren H. Green, Inc., St. Louis
- 33) Hotta, S. (1969): *Dengue and Related Hemorrhagic Diseases*, Warren H. Green, Inc., St. Louis
- 34) Hotta, S. (1972): Pathogenesis and immunity of dengue infection in man, *Kobe J. Med. Sci.*, 18, 199–210
- 35) Hotta, S. and Evans, C. A. (1956 a): Cultivation of mouse-adapted dengue virus (type 1) in rhesus monkey tissue culture, *J. Infect. Dis.*, 98, 88–97
- 36) Hotta, S. and Evans, C. A. (1956 b): Cultivation of type 2 dengue virus in rhesus kidney tissue culture, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 93, 153–155
- 37) Hotta, S., Fujita, N., Shimazu, Y., Yasui, Y., Okubo, Y. and Maruyama, T. (1966): Research on dengue in tissue culture. III. Immunogenic effect of a tissue-cultured (human-attenuated) type 1 virus strain, *Kobe J. Med. Sci.*, 12, 199–205
- 38) Hotta, S., Ohyama, A., Yamada, T. and Awai, T. (1961): Cultivation of mouse-passaged dengue virus in human and animal tissue cultures, *Japan. J. Microbiol.*, 5, 77–88
- 39) Kimura, R. (1953): Tissue culture as applied especially within bacteriology and immunology, Ejnar Munksgaard, Copenhagen
- 40) 木村 廉 (1955): 抗体産生, 組織培養, 162–188, 共立出版, 東京
- 41) 木村 廉, 堀田 進 (1944): デング熱の研究: マウス接種実験を中心として, *日本医学*, 3379, 629–633
- 42) 木村 廉, 堀田 進 (1957): デング熱, 最新ウイルス・リケッチア学 I, 203–240, 田宮猛雄監修, 医歯薬出版
- 43) 木下良順, 宮地 徹 (1944): デング熱で死ぬこともある, なぜか, *日本臨床*, 2, 999–1002
- 44) Lumley, G. F. and Taylor, F. H. (1942): Dengue, *Serv. Publ. No. 3*, Sydney School of Public Health and Tropical Medicine, (University of Sydney), Commonwealth Department of Health
- 45) Matsumura, T., Takehara, M. and Hotta, S. (1967): Some fundamental characteristics of dengue and yellow fever viruses: inhomogeneity and characterization of partially purified viral particles, *Kobe J. Med. Sci.*, 13, 273–293
- 46) McCallum, F. and Dwyer, J. P. (1927): Dengue as a cause of death, *Med. J. Australia*, 1, 10–15
- 47) McNair Scott, R., Nimmannitya, S., Bancroft, W. H. and Mansuwan, P. (1976): Primary dengue infections with shock, *Arbo-Info. Exchange*, No. 31, 76–77
- 48) Memoranda (1966): Mosquito-borne haemorrhagic fevers of South-East Asia and the western Pacific, *Bull. Wld Hlth Org.*, 35, 17–33
- 49) *Morbid. Mortal.* (1976): Follow-up on dengue–Puerto Rico, 25, 65–66, (Cited from *Trop. Dis. Bull.*, 73, 477, 1976)
- 50) Nossal, G. J. V. (1966): Antibody production in tissue culture, In *Cells and Tissues in Culture: Methods, Biology and Physiology*, Willmer, E. N., ed., London-New York Academic Press, 3,

317-350

- 51) 箴島四郎 (1943) : 昭和17年長崎市内に流行せるデング熱の臨床的觀察, 診断と治療, 30, 315-329
- 52) 箴島四郎 (1943追加復刊) : デング熱の臨床
- 53) Parks, J. J., Ganaway, J. R. and Price, W. H. (1958): Studies on immunological overlap among certain arthropod-borne viruses. III. A laboratory analysis of three strains of West Nile virus which have been studied in human cancer patients, *Amer. J. Hyg.*, 68, 106-119
- 54) Price, W. H. (1957): Studies on the immunological overlap among certain arthropod-borne viruses. II. The role of serologic relationships in experimental vaccination procedures, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 43, 115-121
- 55) Price, W. H. (1968): Sequential immunization as a vaccination procedure against dengue viruses, *Amer. J. Epidemiol.*, 88, 392-397
- 56) Price, W. H., Casals, J. and O'Leary, W. (1974): Studies on the sequential immunization against group B arboviruses in squirrel monkeys, cynomolgous monkeys, rhesus monkeys and chimpanzees, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 118-130
- 57) Price, W. H., Casals, J., Thind, I. and O'Leary, W. (1973 a): Sequential immunization procedures against group B arboviruses using living attenuated 17D yellow fever virus, living attenuated Langkat E5 virus, and living attenuated dengue 2 virus (New Guinea C Isolate), *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 22, 509-523
- 58) Price, W. H., Lee, R. W., Gunkel, W. F. and O'Leary, W. (1961): The virulence of West Nile virus and TP21 virus and their application to a group B arbor virus vaccine, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 10, 403-422
- 59) Price, W. H., Parks, J., Ganaway, J., Lee, R. and O'Leary, W. (1963): A sequential immunization procedure against certain group B arboviruses, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 12, 624-638
- 60) Price, W. H., Parks, J., Ganaway, J., Lee, R., O'Leary, W., Thind, I. S. and El Dadah, A. (1971 a): A sequential immunization procedure against group B arboviruses employing four live attenuated group B arboviruses, In *Immunization for Japanese Encephalitis*, Hammon, W. McD., Kitaoka, M. and Downs, W. G., eds., Igaku Shoin Ltd., Tokyo, 319-322
- 61) Price, W. H. and Thind, I. S. (1971 b): Protection against West Nile virus induced by a previous injection with dengue virus, *Amer. J. Epidemiol.*, 94, 596-607
- 62) Price, W. H. and Thind, I. S. (1972): The mechanism of cross-protection afforded by dengue virus against West Nile virus in hamsters, *J. Hyg. Camb.*, 70, 611-617
- 63) Price, W. H., Thind, I. S. and O'Leary, W. (1973 b): The attenuation of the 26th mouse brain passage of New Guinea C strain of dengue 2 virus for use in the sequential immunization procedure against group B arboviruses, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 22, 92-99
- 64) Report of an international collaborative study (1973): Pathogenetic mechanisms in dengue haemorrhagic fever, *Bull. Wld Hlth Org.*, 48, 117-133
- 65) Rosen, L. (1975): Causal association of sequential dengue infection and shock syndrome — Fact or illusion? Abstract, *International Virology 3*, Third International Congress for Virology, Madrid, pp. 215
- 66) Russell, P. K. (1970): Pathogenesis of the dengue shock syndrome: evidence for an immunologic mechanism, In: *Proceedings of the Sixth International Symposium on Immunopathology*, Grindelwald, Switzerland, 1970, Basle, Schwabe, 426-435
- 67) Russell, P. K. (1971): Immunopathologic mechanisms in the dengue shock syndrome, In *Progress in Immunology*, New York, Academic Press, 831-838
- 68) Russell, P. K., Intavivat, A. and Kanchanapilant, S. (1969): Anti-dengue immunoglobulins and serum  $\beta$ 1 c/a globulin levels in dengue shock syndrome, *J. Immunol.*, 102, 412-420
- 69) Sabin, A. B. (1950): The dengue group of viruses and its family relationships, *Bacteriol. Rev.*, 14, 225-232

- 70) Sabin, A. B. (1952, 1959): Dengue, In *Viral and Rickettsial Infection of Man*, Rivers, T. M., (ed.), Philadelphia, Lippincott, Ed. 2, 556-568 (1952); Ed. 3, 361-373 (1959)
- 71) Sabin, A. B. and Schlesinger, R. W. (1945): Production of immunity to dengue with virus modified by propagation in mice, *Science*, 101, 640-642
- 72) Summaries of papers presented at the WHO Inter-Regional Seminar on Mosquito-borne Haemorrhagic Fevers in the South-East Asia and Western Pacific Regions, 1964, *Bull. Wld Hlth Org.*, 35, 35-103, 1966
- 73) Schlesinger, R. W., Gordon, I., Frankel, J. W., Winter, J. W., Patterson, P. R. and Dorrance, W. R. (1956): Clinical and serologic response of man to immunization with attenuated dengue and yellow fever viruses, *J. Immunol.*, 77, 352-364
- 74) 白木和子, 藤田宣哉, 堀田 進, 指方輝正, 松村武男 (1976): ヒト白血球細胞培養におけるアルボ (トガ) ウイルスの増殖, 第24回日本ウイルス学会総会, 名古屋
- 75) Shiraki, K. and Hotta, S. (1975): Cell culture permissibility range of mouse-passaged dengue-1 virus, Joint Conference on Viral Diseases, The US-Japan Cooperative Medical Science Program, San Antonio, Texas
- 76) Siler, J. F. (1935): Dengue fever, In *a Geography of Disease*, by McKinley, E. B., Washington, D. C., George Washington Univ. Press (Suppl. *Amer. J. Trop. Med.*, 15, No. 5), 402-408
- 77) Siler, J. F., Hall, M. W. and Hitchens, A. F. (1926): Dengue: Its history, epidemiology, mechanism of transmission, etiology, clinical manifestations, immunity, and prevention, *Philippine J. Sci.*, 29, 1-304
- 78) Smith, T. J., Brandt, W. E., Swanson, J. L., McCown, J. M. and Buescher, E. L. (1970): Physical and biological properties of dengue 2 virus and associated antigens, *J. Virol.*, 5, 524-532
- 79) Srichaikul, T., Punyagupta, S., Nitiyanant, P. and Alkarawong, K. (1975): Disseminated intravascular coagulation in adult dengue haemorrhagic fever: Report of three cases, *S. E. Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.*, 6, 106-114
- 80) Stollar, V., Stevens, T. M. and Schlesinger, R. W. (1966): Studies on the nature of dengue viruses. II. Characterization of viral RNA and effects of inhibitors of RNA synthesis, *Virology*, 30, 303-312
- 81) Sumarmo, Widya, M. S. and Martoatmodjo, K. (1975): Clinical observations on dengue shock syndrome (An evaluation of steroid treatment), *Paediatrica Indones* 15, 151-160 (Cited from *Trop. Dis. Bull.*, 73, 299, 1976)
- 82) Sumarmo, Widya, M. S. and Puranto, L. (1975): Observations on hospitalized patients with dengue hemorrhagic fever, *Paediatrica Indones*, 15, 125-142 (Cited from *Trop. Dis. Bull.*, 73, 130, 1976)
- 83) Sunoto, Van Peenen, P. F. D., Sumarmo, Sinto, S. and Joseph, P. L. (1975): Studies on dengue in children at Dr. Cipto Mangunkusumo General Hospital, Jakarta (May 1973-January 1974), *Paediatrica Indones*, 15, 143-150 (Cited from *Trop. Dis. Bull.*, 73, 299, 1976)
- 84) Tarr, G. C. and Lubiniecki, A. S. (1976): Chemically induced temperature-sensitivity in vitro with infectivity in suckling mice, hamsters, and rhesus monkeys, *Infect. Immun.*, 13, 688-695
- 85) Technical Advisory Committee on Dengue Haemorrhagic Fever for the South-East Asian and Western Pacific Regions, WHO (1975): Technical guides for diagnosis, treatment, surveillance, prevention and control of dengue haemorrhagic fever
- 86) Trastotenojo, M. S., Soejono, Anggoro, Soemantri, A. and Thaib, S. (1975): A report on dengue hemorrhagic fever patients with viral isolation, *Paediatrica Indones*, 15, 169-180 (Cited from *Trop. Dis. Bull.*, 73, 129, 1976)
- 87) WHO (1972): WHO Techn. Rep. Ser., No. 486
- 88) Wisseman, C. L. Jr. (1966): Prophylaxis of dengue, with special reference to live virus vaccine, *熱帯医学会報*, 7, 51-56

- 89) Wisseman, C. L. Jr., Sweet, B. H., Rosenzweig, E. C. and Eylar, O. R. (1963): Attenuated living type 1 dengue vaccines, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 12, 620-623
- 90) Woodall, J. P., Moore, C. G., López-Correa, R., Sather, G. E., Ruiz-Tibén, E. and Kuno, G. (1976): Dengue in Puerto Rico in 1976, *Arvo-Info. Exchange*, No. 31, 46

## VIROLOGIC CONSIDERATIONS ON ANTI-DENGUE VACCINE

NOBUYA FUJITA

Received for publication 20 August 1976

Possibilities of developing an anti-dengue vaccine are discussed based on our experimental findings with a dengue virus type 1 (DEN-1) Mochizuki strain. The Mochizuki strain virus was attenuated for human beings in the course of several passages through mouse brains since its isolation from the blood of a dengue patient in the 1943 epidemic in Nagasaki, Japan. This attenuated virus in the living state induced no abnormal symptoms after injection into human volunteers or monkeys, yet it stimulated production of specific anti-DEN-1 NT and HI antibodies and induced a prophylactic effect on the human beings against virulent dengue viruses (in the form of patient's serum) given experimentally. The immunogenic effects of the virus was maintained after passages in primary monkey kidney tissue cultures. Using the tissue culture virus, together with the 17D yellow fever (YF) vaccine, a combined immunization of human beings against DEN and YF was possible; production of the antibodies of significant titers against both viruses was unequivocally demonstrated. The partially purified virus was similarly effective in stimulating production of the anti-DEN antibodies, and the same statements could be made as to the viral components obtained by sucrose density gradient centrifugation. The virus was shown to multiply in the WI-38 cell line cultures, and this suggests application of this cell line to produce a live tissue culture vaccine.

Conclusions of this review are: (1) the Mochizuki virus is completely attenuated; (2) yet it stimulates production of specific anti-DEN antibodies and induces protection against DEN-1 infection by virulent human virus; and (3) that possibility of developing a live tissue culture vaccine is suggested; this also makes possible a combined DEN-YF vaccination on the experimental basis. It is stated in the connection that the purified virus or its components can be used for the above purposes.

Problems regarding the implication of "hypersensitivity hypothesis" of dengue and dengue hemorrhagic fever-shock syndrome in anti-DEN vaccination are in addition discussed.

## エチオピア南西部における腸管寄生虫 並びに住血吸虫の浸淫調査

TEFERRA WONDE<sup>1</sup>・多田 功<sup>2</sup>・岩本 功<sup>3</sup>

昭和51年4月12日 受付

### 緒 言

エチオピアは“寄生虫の博物館”と言われるほどその住民には多種多様の寄生虫感染が認められる。このことについてはすでに Schaller (1971) や多田ら (1972) がそれぞれの総説で指摘した。中でも腸管寄生虫の浸淫実態については Wang (1965), Molineaux (1967), Aklilu *et al.* (1968), 多田ら (1973) 等の各地における調査報告がある。住血吸虫や赤痢アメーバ等重篤な病害をもたらす寄生虫の広汎な分布は保健上の大きな問題である。更に最近, “失明病”としてクローズアップされて来たオンコセルカ症の分布地も広大であり, 同症の最近の実態については Oomen (1967-1969), Iwamoto *et al.* (1973) 等の報告が挙げられる。

著者らは1971年1月から1972年1月の間, エチオピア帝国中央研究所(旧称, Imperial Central Laboratory & Research Institute)の医動物学部において技術指導と研究に従事した。その期間中, 同国南西部の寄生虫感染, 特にオンコセルカと住血吸虫に焦点をあてた調査研究を数回実施した。本報告ではこれらの成績のうち, 住血吸虫およびその他の腸管寄生虫に関する調査成績を述べる。更にこれら南西部地域の対照として首都アジスアベバ市にある中央研究所外来患者における検査成績(1971年及び1975年)を述べ, 農村と都市の寄生虫相の差についても比較したい。

### 調査対象・方法

エチオピアは南北をそれぞれケニアと紅海に接し, 東西をそれぞれソマリアとスーダンに境している。国土のほぼ中央をリフト峡谷が走り, その底部においてアジスアベバから南西方向, ケニアのルドルフ湖に至る線上には大小の湖沼が点在している (Fig. 1)。調査は Fig. 1 に示したように Sidamo 州の Awasa, Yirga Alem, Tukuru Wuha, Gemugofa 州の Arba Minch において1971年5-6月の期間に実施した。Awasa では保健所外来患者, 地域開発学校 (School of Community Development) 生徒, 及び Awasa 小学校児童について, Tukuru Wuha 村では全住民を対象に, Yirga Alem ではミッション病院の外来患者, 更に Arba Minch では小中学校児童全員を対象にして, 検便と検尿を実施した。この調査では住血吸虫浸淫を検討するのが目的であったので AMS III 法による検便と, ビルハルツ住血吸虫検出のための検尿を施行した。従って腸内原虫の検索は行えなかった。また, 培養法や肛囲検査なども実施していない。一方, 1971年3月及び8月の調査では Kaffa 州の首邑 Jimma にある Ras Desta Damtew 病院及び同地の保健所の外来患者と Illubabor 州の Dedessa 及び Bunno Bedele の一般住民についてはホルマリン・エーテル法による検便を実施した。従ってこれらの対象については腸管内原虫の観察も実施した。対照の中央研究所外来患者について

1 Central Laboratory & Research Institute, Ministry of Public Health, (Present address: Ministry of Health) Addis Ababa Ethiopia.

2 金沢医科大学医動物学教室 石川県河北郡内灘町字大学1-1 (現住所: 熊本大学医学部寄生虫病学教室) 3 下松記念病院 山口県下松市西柳 \* 本研究はエチオピア国厚生省中央研究所 (CL & RI) 及び日本国海外技術協力事業団 (O.T.C.A.) の援助のもとに実施された。

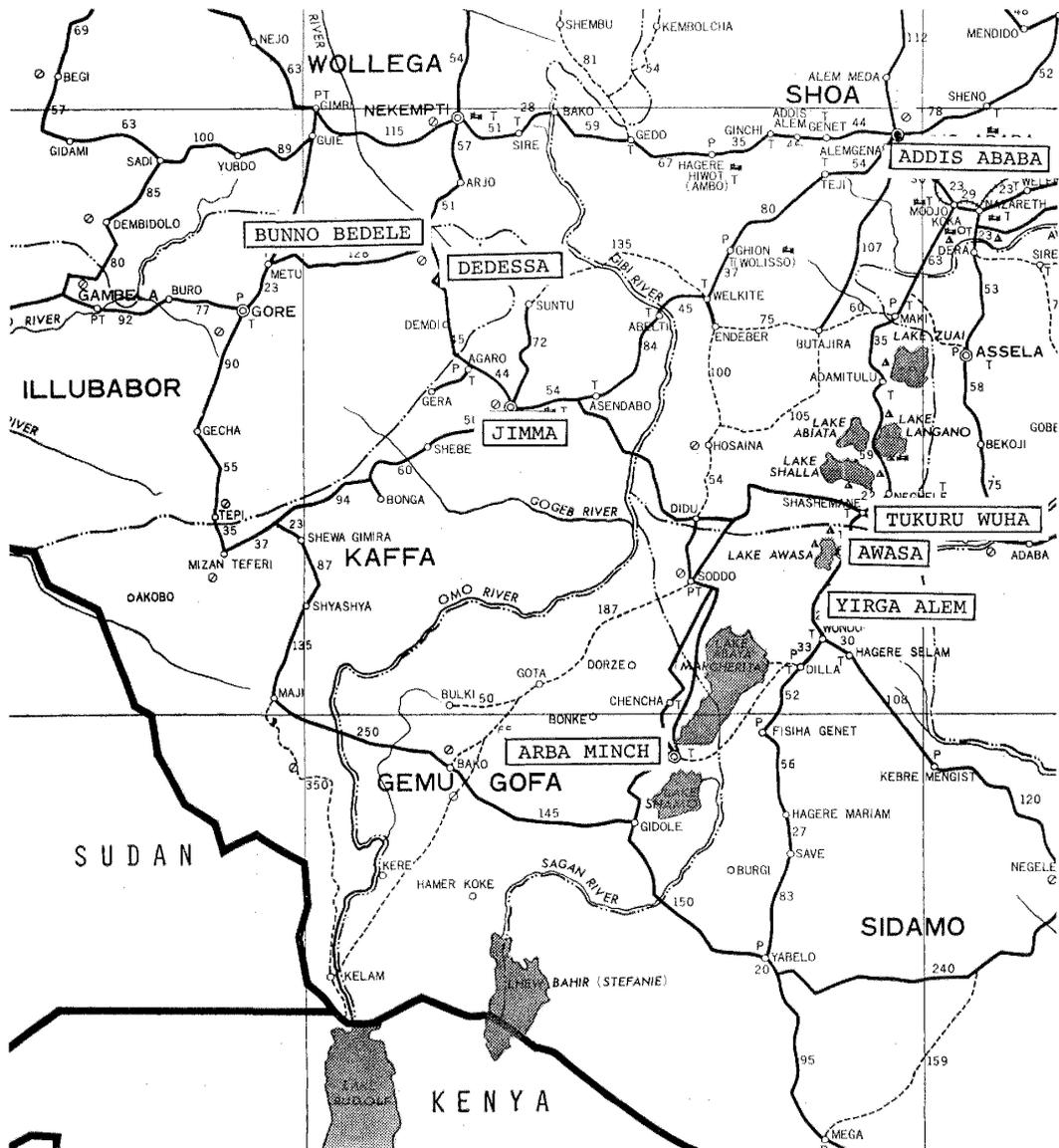


Fig. 1 Map of the South-western part of Ethiopia showing the areas surveyed.

はルーチンのホルマリン・エーテル法による検便と、アメーバに対しては鉄ヘマトキシリン染色法をも併用して調査している。その対象は主として首都の住民で社会的には中流以上の者が多い。

### 調査成績

Sidamo 州, 5 個所, Gemugofa 州 1 個所における検便, 検尿成績を Table 1 に示した。次に Kaffa 州 1 個所, Illubabor 州 2 個所における検

査成績を Table 2 に示した。

#### 1) Sidamo 州における調査成績 (Table 1)

5 個所での合計 383 名中, 寄生虫陽性者は 292 名 (76.2%) であるが, Awasa 小学校児童でも 73.2% の陽性であり Tukuru-Wuha のように成人を含んで部落の全住民を対象にした場合は 92.9% という高い値が見られた。但し, 地域開発学校の生徒は全国から集まった青年なので, 見出された Manson 住血吸虫感染者は Awasa 湖とその周辺で感染したのかどうか不明である。Sidamo 州での被

TABLE 1 Prevalence of helminthic parasites in Sidamo and Gemugofa Provinces revealed by fecal and urinary examinations (May and June, 1971)

	Sidamo Province						Gemugofa Prov.
	Awasa Health Center	School of Community Development, Awasa	Elementary School, Awasa	Provincial Hospital, Yirga Alem	Tukuru Wuha	Total	Elementary and Secondary School, Arba Minch
No. persons examined	50	37	190	22	84	383	147
No. persons positive	33 (66.0)**	24 (64.8)	139 (73.2)	18 (81.8)	78 (92.9)	292 (76.2)	112 (76.2)
H. w.*	3	2	38	4	13	60 (15.7)	69 (46.9)
T. t.	21	18	92	14	58	203 (53.0)	79 (53.7)
A. l.	11	7	68	7	50	143 (37.3)	21 (14.3)
Tr.	0	1	0	0	0	1 ( 0.3)	0 ( 0.0)
S. s.	2	0	4	2	3	11 ( 2.9)	1 ( 0.7)
E. v.	0	0	2	0	0	2 ( 0.5)	0 ( 0.0)
Ta.	1	0	17	2	6	26 ( 6.8)	6 ( 4.1)
H. n.	0	0	1	0	6	7 ( 1.8)	0 ( 0.0)
S. m.	1	3	0	0	1	5 ( 1.3)	2 ( 1.4)
F.	1	0	0	0	0	1 ( 0.3)	0 ( 0.0)

\* H. w., Hookworm; T. t., *Trichuris trichiura*; A. l., *Ascaris lumbricoides*; Tr., *Trichostrongylus* sp.; S. s., *Strongyloides stercoralis*; E. v., *Enterobius vermicularis*; Ta., *Taenia* sp.; H. n., *Hymenolepis nana*; S. m., *Schistosoma mansoni*; F., *Fasciola* sp.

\*\* Percentage positive

TABLE 2 Prevalence of intestinal parasites in Kaffa and Illubabor Provinces revealed by fecal examinations (March and August, 1971)

	Kaffa Province		Illubabor Province	
	Health Center and Ras Desta Damtew Hospital, Jimma	Dedessa	Bunno-Bedele	Total
No. persons examined	68	51	48	99
No. persons positive	51 (75.0)	44 (86.3)	35 (72.9)	79 (79.8)
H. w.	12 (17.6)	28	6	34 (34.3)
T. t.	33 (48.5)	29	17	46 (46.5)
A. l.	29 (42.6)	23	26	49 (49.5)
Tr.	3 ( 4.4)	7	3	10 (10.1)
S. s.	7 (10.3)	2	1	3 ( 3.0)
E. v.	0 ( 0.0)	1	0	1 ( 1.0)
Ta.	3 ( 4.4)	0	0	0 ( 0.0)
S. m.	2 ( 2.9)	1	0	1 ( 1.0)
E. h.*	5 ( 7.4)	0	1	1 ( 1.0)
G. l.	7 (10.3)	0	1	1 ( 1.0)

\* E. h., *Entamoeba histolytica*; G. l., *Giardia lamblia*

検者合計 383 名中、陽性者 292 名 (76.2%) で、最も高率の感染は鞭虫 (53.0%)、次いで回虫 (37.3%)、鉤虫 (15.7%) である。中でも無鉤条虫が 26 名 (6.8%) に、小形条虫が 7 名 (1.8%) に検出され、肝蛭も 1 例に見出されている。見出された 5 名のマンスン住血吸虫感染者のうち、保健所外来患者 1 名と Tukuru-Wuha 村住民の 1 名は土着の感染と考えられた。このため従来は非流行地と考えられていた Awasa 湖とその周辺にも住血吸虫の伝搬が及んで来ていると考えられた。なお今回、全例の検尿によっては、ビルハルツ住血吸虫感染者を見出せなかった。更に中間宿主貝における自然感染調査も施行していない。

#### 2) Gemugofa 州における調査成績 (Table 1)

Arba-Minch は Awasa 湖の南方、Abaya 湖と Shamo 湖の間の小高い丘陵地にある町である。この町の小中学児童 147 名中、寄生虫陽性者は 112 名 (76.2%) であった。その内容は Awasa の学童の場合とほぼ同様で腸管寄生虫保有者が多かった。しかしこの場合注目されるのは児童においても 2 名 (1.4%) のマンスン住血吸虫感染者が見

られたことである。Awasa 湖同様、上述の 2 つの湖にも未だ濃厚ではないにしても住血吸虫の伝搬が起こっていることを示している。

#### 3) Kaffa 州における調査成績 (Table 2)

Jimma 市内 2 箇所 (Ras Desta Damtew 病院と保健所) の外来患者合計 68 名を調べた結果、虫卵保有率は 75.0% であった。腸管寄生虫が圧倒的に多いのは他の地域と同様であるが糞線虫 (10.3%) が高率であり、原虫では赤痢アメーバが 7.4% に、ランブル鞭毛虫が 10.3% の被検者に見出されているのが注目された。この地域でも無鉤条虫が 3 名 (4.4%) に見出され、かなりの感染者がいることが推定される。

#### 4) Illubabor 州における調査成績 (Table 2)

Dedessa と Bunno Bedele の 2 地域の住民合計 99 名をランダムに調査し、うち 79 名 (79.8%) が陽性であった。鞭虫、回虫等は他と同様であるが、毛様線虫属の感染が 10 名 (10.1%) にも見出された点、その食生活との関連で注目された。原虫類の感染は低率であった。

TABLE 3 Results of fecal examinations on the out-patients at Central Laboratory &amp; Research Institute in Addis Ababa (1971 and 1975)

Parasites	1971 (Jan.-Dec.)	1975 (Jun.-Nov.)
H. w.	41 ( 1.3%)	145 ( 6.0%)
T. t.	749 (23.4%)	779 (32.4%)
A. l.	231 ( 7.2%)	283 (11.8%)
Tr.	8 ( 0.2%)	12 ( 0.5%)
S. s.	221 ( 6.9%)	329 (13.7%)
E. v.	11 ( 0.3%)	4 ( 0.2%)
Ta.	48 ( 1.5%)	73 ( 3.0%)
H. n.	24 ( 0.7%)	64 ( 2.7%)
S. m.	53 ( 1.7%)	92 ( 3.8%)
F.	26 ( 0.8%)	7 ( 0.3%)
E. h.	353 (11.0%)	299 (12.4%)
G. l.	99 ( 3.1%)	149 ( 6.2%)
I. h.*	—	172 ( 7.1%)
Total No. examined	3,206	2,408

\* *I. h.*, *Isospora hominis*

#### 5) 厚生省中央研究所 (CL & R I)における外来患者の検便成績 (Table 3)

本研究所はアジスアベバ市にあり、旧パスツール研究所を転用した厚生省直轄の研究所以である。本研究所外来を受診できる患者層はアジスアベバ市でも中流以上の社会階層に属する者と言える。Table 3 にかかげた成績は、1971年1月-12月の1年間に受検した3,206名と、1975年6月-11月の半年間の2,408名についての成績を集計したものである。Table 1-2 に示した農村部における成績と比較すると、一般的に腸管寄生虫の感染率は低い。しかし、糞線虫は1971年には被検者の6.9%、1975年には13.7%に見られ、無鉤条虫もそれぞれ1.5%及び3.0%に見出されている点が注目される。肝蛭も1971年には0.8%、1975年に0.3%も見出されている。マンソン住血吸虫の場合、保有率は1.7%と3.8%で、流行地からの感染者の流入、あるいは流行地で罹患する者が相当数存在することを示している。一方、原虫類では赤痢アメーバ保有率が11~12%で、むしろ農村における感染をまわっている。ランブル鞭毛虫の感染率も高い。

#### 考 察

エチオピアにおいては、従来より腸管寄生性の蠕虫及び原虫の浸淫が高いことはよく知られ、特に住血吸虫はその病害の重篤なことから注目され、これに関する疫学的な調査はいくつか為されている。たとえば、Buck *et al.* (1965) は Tigre 州 Adwa の住血吸虫調査から合計459名中282名(61.4%)がマンソン住血吸虫卵陽性であったと述べている。Wang (1965) は Begemidir 州及び Semien 州の8箇所住民995名を調査し、回虫卵陽性者63.4%、鞭虫17.2%、糞線虫8.2%、鉤虫5.2%、マンソン住血吸虫0.8%、赤痢アメーバ12.3%であったという。Aklilu (1966) は同国の住血吸虫の疫学・治療に関連して Adwa の同症浸淫は住民の60~80%にも及ぶと述べている。その報告中に Russel (1958)の調査にふれ、Awash 川に沿う Gawani のダナキル族189名中48%がビルハルツ住血吸虫感染者であったことを紹介している。Molineaux (1967) によれば Gondar 市のハイレ・セラシエ I 世病院の入院患者2,537名中、

回虫は40.7%, 鞭虫32.0%, 鉤虫25.6%, 糞線虫10.1%, 住血吸虫2.3%, 赤痢アメーバは栄養形1.1%, 嚢子形3.2%が見られたという。前述 Aklilu *et al.* (1968) は首都 Addis Ababa の学童468名中73%が虫卵陽性で、内訳は回虫が52.7%, 鞭虫15%, 鉤虫0.7%, マンソン住血吸虫0.5%, 無鉤条虫1.9%, 赤痢アメーバ0.5%であったという。同じ Shoa 州の Debre Zeit では学童90名中陽性者50%で回虫23.3%, ランプル鞭毛虫8.8%, 無鉤条虫7.7%, 小形条虫5.5%, 鞭虫3.3%, 鉤虫2.2%, 赤痢アメーバ2.2%の順であった。

これら上述の報告と、今回の著者らの成績とを比較すると、地方により、対象により多少の差はあるものの、エチオピアではどこでも寄生虫感染が高率に見られる点では共通している。大部分の寄生虫が経口的に感染することから、住民の食生活に最大の問題があるのは疑いない。汚染された食物、飲料を通じて蠕虫や原虫の感染が起こるのであるが、中には牛肉の生食による無鉤条虫感染の如き固有の食習慣に根ざしているものもあり注目される。

松枝 (1974) は中央研究所職員75名をくりかえし検便し、45.3%に赤痢アメーバを検出したという。頻回の、また対象にあわせた検査（たとえば鉤虫における培養法、蟻虫に対する肛囲検査法）を行えば当然上述の諸数値は更に上昇することは明らかである。

前述の無鉤条虫の場合、牛肉の生食という習慣が抜きがたいことを反映しているが、鈴木(1969)はこの点にふれ、エチオピア人は定期的に“コソの木”からとれる駆虫薬（生薬）を飲用し、その中毒作用のため時に失明や死亡することを述べている。このような二次的な弊害も忘れてはならない。

肝蛭 (*Fasciola sp.*) については牧畜の盛んなエチオピアとして Zoonosis の観点から興味ふかいが、その種の同定は未だ為されておらず、臨床的な研究も行われていない。

一方、経皮感染経路をとる鉤虫、糞線虫などは裸足の生活が通常である住民の生活から考えて当然高率に感染している。住血吸虫の場合は、尿尿

で汚染された水系における水浴、漁業などによって発生するが、本症の場合、健康を障害する程度が強いため大きな問題である。マンソン住血吸虫は従来から Tana 湖周辺、Eritrea, Harrar 等に広汎に分布していることが明らかにされている。ビルハルツ住血吸虫については前記の Aklilu の報告のように Harrar など一部の国土に分布することは明らかであるがその全容は未だ不明である。Ito *et al.* (1973) は感染実験により、エチオピアにおけるマンソン住血吸虫の主な中間宿主は *Biomphalaria pfeifferi rueppelii* と考えている。この貝は国土全般に広く分布しているため、マンソン住血吸虫感染者の移動に伴い新たな流行地を作り出す可能性は非常に強い。この観点から、大規模な農業開発により中間宿主貝の棲息に適する水系を更に広げたり、流行地からの大量の労働者の移動を行う際には、流行地の拡大をまねかないよう注意する必要がある。

今回の調査ではアジスアベバ南方の湖沼地帯にはビルハルツ住血吸虫の感染者を認め得なかった。しかしマンソン住血吸虫に関しては、従来その流行の知られなかった Awasa 湖, Abaya 湖, Shamo 湖などの周辺の住民にも希薄ながら感染が見られた。但し、中間宿主貝における自然感染状況については調査を実施できなかった。しかしこの地帯はエチオピア国の観光地でもあり、またリフト峡谷の開発に重要な地域であることを思えば、事前の十分な対策が施行されることがつよく望まれる。

## 総 括

著者らは1971年3月から8月の期間にエチオピア国南西部 Sidamo 州, Gemugofa 州, Kaffa 州及び Illubabor 州に属する地域の学童、住民、外来患者を対象に腸管寄生虫浸淫状況を調査した。その結果、検便により対象の66~93%が寄生虫保有者であることが明らかになった。中でも鞭虫、回虫、鉤虫の寄生率は高いが、無鉤条虫、赤痢アメーバの保有率も高いことが注目される。

首都アジスアベバ市にある厚生省中央研究所外来患者についての1971年1月—12月及び1975年

6月—11月の検査成績では、回虫など腸管寄生線虫の感染率は農村部に比べて低いが、無鉤条虫感染者は同等で、更に赤痢アメーバ保有率は11～12%と高値であった。

今回の調査でアジスアベバ南西方に点在する湖沼群のうち Awasa 湖, Abaya 湖, Shamo 湖に軽度ながら Manson 住血吸虫の土着の感染が存在することが推定された。

## 文 献

- 1) Aklilu, L. (1966): Schistosomiasis in Ethiopia and prospects of control, Abstract, Third International Conference of Ethiopian Studies, Addis Ababa
- 2) Aklilu, L., Demisse, M. and Mezegia, B. (1968): Parasitological survey of Addis Ababa and Debre Zeit school children, with special emphasis on bilharziasis, Ethiopian Med. J., 6, 61-70
- 3) Buck, A. A., Spruyt, D. J., Wade, M. K., Deressa, A. and Feyssa, E. (1965): Schistosomiasis in Adwa. A report on an epidemiological pilot study, Ethiopian Med. J., 3, 93-105
- 4) 伊藤洋一, 多田 功, 板垣 博, 岩本 功, Teferra Wonde, Aseffa Tekle (1973): エチオピア Rift valley 南部湖水地区における *S. mansoni* および *S. haematobium* の感染状況, 寄生虫誌, 22(1), 補17-18
- 5) Ito, Y., Itagaki, H. and Wonde, T. (1973): Studies on the susceptibility of *Biomphalaria pfeifferi rueppellii* (Dunker) and *B. sudanica* (Martens) to *Schistosoma mansoni* in Ethiopia, Jap. J. Trop. Med. Hyg., 1, 1-5
- 6) Iwamoto, I., Tada, I. and Wonde, T. (1973): Incidence and clinical manifestations of onchocerciasis in endemic foci of Illubabor Province, Ethiopia, Trop. Med., 15, 36-45
- 7) 松枝 張 (1974): エチオピア帝国中央衛生研究所第4次派遣専門家総合報告書, 医協資医—74-17号, 3-10, 海外技術協力事業団, 東京
- 8) Molineaux, L. (1967): Intestinal parasitism among inpatients of the Haile Sellassie I Hospital, Gondar, Ethiopia, Ethiopian Med. J., 5, 77-83
- 9) Oomen, A. P. (1969): Studies on onchocerciasis and elephantiasis in Ethiopia, De Erven F, Bohn N. V. — Haarlem —
- 10) Schaller, K. F. (1971): Wurminfektionen in Äthiopien, Z. Tropenmed. Parasitol., 22, 36-49
- 11) 鈴木秀夫 (1969): 高地民族の国エチオピア, 古今書院, 東京
- 12) 多田 功 (1972): エチオピアにおける寄生虫病とその背景, アフリカ研究, 第12号, 15-20
- 13) 多田 功, 岩本 功, 伊藤洋一, テフェラ・ウオンデ, アセファ・テクレ (1973): エチオピア南西部における寄生虫感染状況, 寄生虫誌, 22 (1 補), 37
- 14) Wang, L. (1965): Helminthiasis in Begemidir and Semien Province, Ethiopia, Ethiopian Med. J., 4, 19-26

## PREVALENCE OF INTESTINAL PARASITES AND SCHISTOSOMIASIS IN SOUTH-WEST ETHIOPIA

TEFERRA WONDE<sup>1</sup>, ISAO TADA<sup>2</sup> AND ISAO IWAMOTO<sup>3</sup>

Received for publication 12 April 1976

During the period between March and August 1971, the authors carried out fecal and urine examinations of school children, inhabitants and out-patients in Sidamo, Gemugofa, Kaffa and Illubabor Provinces which were located in the South-western part of Ethiopia. These surveys revealed that 66-93% of the examined population harboured miscellaneous parasites as shown in Tables 1 and 2. Among the parasites found, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides* and hookworm were abundant in all the areas examined. At the same time, it was noted that *Taenia saginata* and *Entamoeba histolytica* infections were also considerably high among the studied population.

The comparative examinations carried out on the out-patients who visited the Central Laboratory & Research Institute at Addis Ababa in 1971 and 1975 confirmed that the *Taenia* and *E. histolytica* infestations in the capital were as high as those of the above mentioned rural areas. On the contrary, those of the other intestinal nematodes were rather low in Addis Ababa (Table 3).

The present surveys demonstrated the existence of autochthonous transmission of *Schistosoma mansoni* in Lakes Awasa, Abaya and Shamo, because of the positive finding of *S. mansoni* eggs in the surrounding areas. Although the prevalence of schistosomiasis is not yet so serious in these areas, this fact should be taken into consideration when the agricultural and industrial projects are implemented in the Rift Valley in the very near future.

---

1 Central Laboratory & Research Institute, (Present address: Ministry of Health) Addis Ababa, Ethiopia. 2 Kanazawa Medical University, Ishikawa, (Present address: Department of Parasitic Diseases, Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto) Japan. 3 Kudamatsu Memorial Hospital, Yamaguchi, Japan.

## AN INTENSIVE SURVEY OF INTESTINAL PARASITE INFECTIONS AT UKEN VILLAGE ON AMAMI OSHIMA ISLAND, SOUTHERN JAPAN

AKIRA ISHII

Received for publication 24 May 1976

**Abstract:** An intensive field survey of intestinal parasitic infections was conducted at three community villages on Amami Oshima island, southern Japan (N. 28°, E. 129°). After five repeated collections, 96% of the population (510) submitted materials for examination. Only 54% of the residents responded to the first call but the age distribution of the responded was statistically deviated as compared with that of the expected. However, the prevalence data of hookworm and *Trichuris* infections were not statistically different from that of the resultant total collections. In this size of sampling, the difference of collection methods may not influence the results. The resultant prevalence data were 13% for hookworm, 25% for *Trichuris* and *Enterobius*, 3% for *Strongyloides*, 2.5% for *Ascaris* and 3% for amebic infections. Among the non-responses, the refusal was 15 percent.

### INTRODUCTION

In every project to make an epidemiological study or to control the parasitic infections, it is the most important and the most difficult task as well to obtain or collect reliable exact data of the prevalence rates. The laborious field work would only be rewarding when the data obtained is really representative and correct.

In this aspect, Ishii (1972) discussed the problems concerning the sampling survey in relation to hookworm infections. There was a certain tendency in responses of certain age groups and this caused deviations.

In the present study, it was intended to compare the data between the ordinary single collection and repeated collections of materials and to analyze the problems of non-responses.

### MATERIALS AND METHODS

*Study area:* The survey work was carried out from February to May in 1971 at three communities of Uken village in the southern part of Amami Oshima island. The island is located at 28° latitude north and 129° longitude east. The communities

---

Amami Branch Laboratory, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Amami Oshima, Kagoshima, Japan.

Present address: Department of Parasitology, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Shirokanedai, Minatoku, Tokyo 108.

face to the sea of a gulf and each is surrounded by mountains. Average temperature through the year is 21 C and the highest temperature is 34 C and the lowest is 4 C. Rainfall is abundant in June and August exceeding 450 mm. Total population of the surveyed communities was 510. Most people earn their living by farming or fishing. The Uken village has a clinic and a doctor to people ratio was 3,728. One of the three communities (Heda) has the piped water supply system.

*Survey methods:* Listing of the people was requested to the community leaders through the municipal office. All the people were informed of the survey by leaders using the loud speaker system. The first collection of the materials was carried out at a gymnasium of a primary school at Heda. To every one was given a small specimen cup and a sticky cellophane tape invented to examine *Enterobius* infection. The following repeated collections were made at the house of each community leader and they were handed to us. The materials were brought back to the laboratory and processed to examine on the same day. After the second collection, a questionnaire was sent to the non-responded people to study the reasons of non-responses.

*Methods of examination:* In order to examine for parasitic ova, Kato's thick-smear technic (Kato, 1951) was employed. The cellophane cover slip was stained with 3% malachite green. The culture method used for nematoda infective larvae was that of described by Sasa *et al.* (1964). The polyethylene tube was used instead of the test tube, and smeared specimens on filter paper were left for one week at 28 C in an incubator. Another technic used was sedimentation concentration described by Ritchie (1948). A part of feces was mixed and fixed in 10% formalin with merthiolate in the centrifuge tube. After centrifugation, the resultant sediment was stained with iodine and examined for either protozoan cysts and parasitic ova.

## RESULTS

The prevalence rates of intestinal parasitic infections obtained in this study are listed in Table 1. The attained number of people examined for parasitic infections was 466, or 91% of the entire population. There were 22 individuals practically unable to examine. They were away from home, deceased, movers, blind or mentally disordered. If one exclude these 22, the rate goes up to 96%. This was accomplished by five repeated calls as shown in Fig. 1. In the first collection, 54% of the population responded but the age distribution was deviated greatly and response rates were not statistically uniform among age groups in both sexes ( $\chi^2=20.29$  for men,  $\chi^2=15.01$  for women.  $\chi^2_{0.05}=14.07$  at the degree of freedom of 7). This is shown in Fig. 2 to compare with the expected number.

The age distribution of hookworm infection is shown in Fig. 3 with the population constitution of the communities.

The prevalence of *Trichuris* infection is presented in Fig. 4.

The age distribution of *Enterobius* infection is shown in Fig. 5 with the number of submitted.

In this survey, positive infection rates of hookworm infection in the first collection and total collection are not statistically different in both sexes. The same result is obtained with *Trichuris* infection in both sexes. These figures are presented

TABLE 1 Prevalence rates of intestinal parasite infections in communities of Uken on Amami Oshima island, southern Japan in 1971

	Communities			
	Amuro	Heda	Yadon	Total
Population	158	221	131	510
Examined	148 (94%)	199 (90%)	119 (91%)	466 (91%)
Hookworm infection	31 (21%)	18 (9%)	11 (9%)	60 (13%)
<i>Trichuris trichiura</i>	24 (16%)	67 (34%)	26 (22%)	117 (25%)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	3	8	1	12 (2.6%)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	7	0	11
Others	4	4	1	9
Examined for <i>Enterobius vermicularis</i>	96	103	52	251 (49%)
Infected	19 (20%)	35 (34%)	8 (15%)	62 (25%)
Examined for protozoas	129	176	88	393 (77%)
Amoebas	3	8	2	13 (3%)
Others	1	2	0	3
Parasitized people	68 (46%)	106 (53%)	36 (30%)	210 (45%)

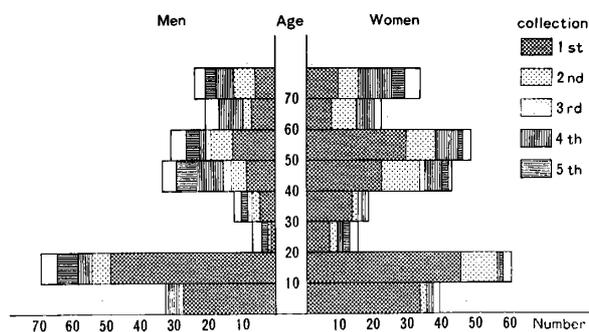


Fig. 1 Population constitution of the communities surveyed and attained number of examined by five repeated collections.

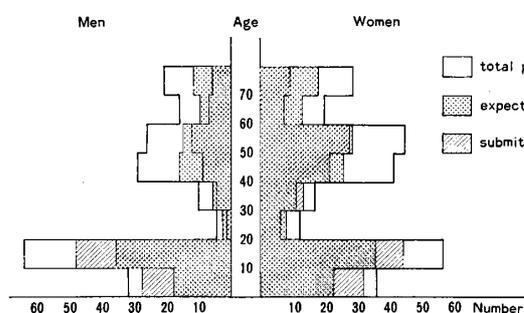


Fig. 2 Age distribution of the first submit as compared with that of expected.

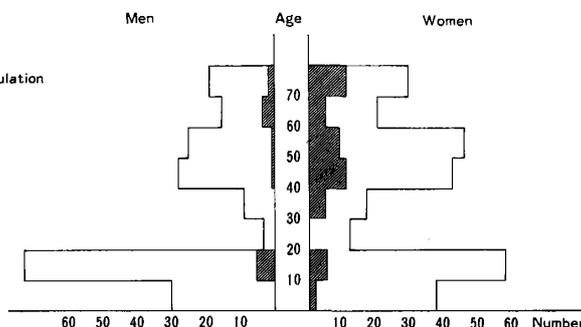


Fig. 3 Age distribution of hookworm infections in total population.

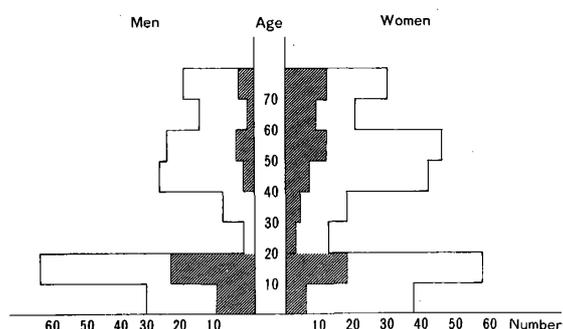


Fig. 4 Age distribution of *Trichuris trichiura* infection in total population.

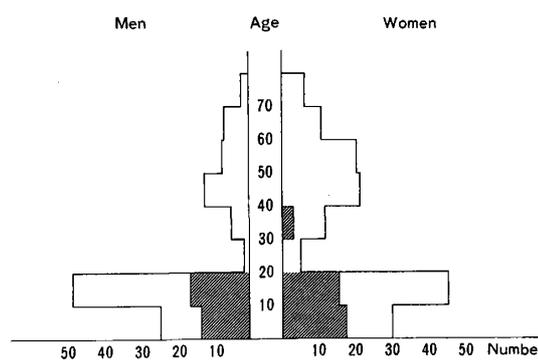


Fig. 5 Age distribution of *Enterobius vermicularis* infection as compared with that of submitted.

TABLE 2 Comparison of the infection rates between the first collection and total results in hookworm and *Trichuris* infection

	first collection	infected	Total	infected	significant difference
<b>Hookworm</b>					
men	113	10 ( 9%)	202	14 ( 7%)	none N. D.=0.61
women	164	28 (17%)	261	45 (17%)	0.03
total	277	38 (14%)	463	59 (13%)	0.03
<b>Trichuris</b>					
men	113	30 (27%)	202	50 (25%)	none N. D.=0.61
women	164	44 (27%)	261	65 (25%)	0.03
total	277	74 (27%)	463	115 (25%)	0.03

in Table 2.

Besides these main helminthic infections, there were five cases of *Hymenolepis nana* infection and four cases of rhabditid nematoda infection. Protozoan infection was relatively few. Among 13 cases of amebic infections, there were eight cases of *Entamoeba coli* infection, and *E. histolytica* infection was less than three. Other protozoan infections were two cases of *Giardia lamblia* and a case of *Iodamoeba bütschlii*.

As to the causes of non-responses, among 31 people who sent back the questionnaire, 29% were away from home, 38% were lack of material, 15% were refusals and 12% were the people who had forgotten of the survey on the date.

In the examination for *Trichuris* infection, among 117 of the detected, 48 were found in thick smear, 39 were found in sedimentation concentration and 30 in both methods.

## DISCUSSION

In this study, 54% of the population submitted the material in the first col-

lection. This coverage is not very high but this figure is usually the case with field studies. In practice, specimens are usually collected only once, but as is shown in Fig. 2 there is a certain deviation in age group responses. On this point, the same result was presented in another survey on the same island (Ishii, 1972). However, as the population size of the surveyed area was small, there was not any significant difference between the prevalence data obtained in the first collection and the final result after five collections. In the survey of this scale, ordinary voluntary submission of the materials would suffice the purpose.

As to the prevalence data, decrease of infection rates of hookworm and *Ascaris* is notable. Sasa *et al.* (1964) surveyed the same communities and the prevalence data were 43% for hookworm and 32% for *Ascaris*. Sato *et al.* (1958) surveyed the northern part of the island and the prevalence rates were 44% for hookworm and 14% for *Ascaris*. These significant decrease of infection rates would be due to control measures conducted on school children.

The infection rates of intestinal protozoan cysts were low. Arima (1959) studied 168 people on nearby islands and found 10% of *Entamoeba histolytica* infection and 26% of *E. coli* infection. In this study, amebic infections were very few.

This study was an attempt to examine the entire population to obtain the real prevalence data and compare with that of the ordinary collection. The fifth collection was practically the last one that could be done. As is shown in Fig. 1, total coverage was good enough for our purpose considering the absentees from homes, movers and so on. Although we could not demonstrate the significant difference of the data between ordinary collection and repeated collections because of the small scale of the survey, it would be still stressed to take into consideration that deviated response rates in age groups would deform the real picture. In parasitological survey, practical sampling methods need to be further investigated.

The question has been remained about the reasons of non-responses in the parasitological surveys. In this study, the refusals were relatively few and most of them were forced to do so by inevitable reasons. In social investigations, six causes are distinguished (Moser, 1969). They are; 1. units outside the population (ex. died), 2. unsuitable for interview (ex. blind), 3. movers, 4. refusals, 5. away from home and 6. out at the time of call. Among these, No. 6 could be decreased by repeated collection and the one gives problem is the refusal. Whether the non-responses would give any deviation to the data or not should be studied further.

#### ACKNOWLEDGEMENT

The author wishes to thank Mr. E. Motoi, Mr. Y. Noboru and Miss Y. Kawai for their technical assistances.

#### REFERENCES

- 1) Arima, Y. (1959): A report of investigation on *E. histolytica* in Amami islands, Med. J. Kagoshima Univ., 10 (6), 179-181
- 2) Ishii, A. (1972): Random sampling in a parasitological survey on Amami Oshima island, southern

- Japan, with reference to hookworm infection, Japan. J. Exp. Med., 42 (1), 35-42
- 3) Kato, K. (1951): A new technic of stool examination for parasitic ova, Proc. Meeting of Japanese parasitologists
  - 4) Moser, C. A. (1969): Survey methods in social investigation, 127-144, Heinemann, London, pp. 352
  - 5) Ritchie, L. S. (1948): An ether sedimentation technique for routine stool examinations, Bull. U.S. Army Med. Dept., 8, 326
  - 6) Sasa, M., Mitsui, G., Kakegawa, S. and Yamamoto, K. (1964): Epidemiological studies on the distribution of intestinal parasites among people in Amami island by fecal examinations with the polyethylene-tube culture and the thick smear methods, Jap. J. Parasitol., 13, 379-386
  - 7) Sato, H., Fukushima, H., Ibusuki, E., Tsukasa, S. and Nonaka, T. (1958): On parasitic helminths, especially on hookworm and *Strongyloides stercoralis* in Amami Oshima, Med. J. Kagoshima Univ., 10 (4), 350-357

### 奄美大島宇検村の腸内寄生虫調査成績

石 井 明

奄美大島、宇検村の3部落において腸内寄生虫の感染状況を調査した。糞便材料について厚層塗抹法、濾紙培養法、ホルマリン・エーテル集卵嚢子法を行い、セロファン粘着テープ法で蟯虫につき検査した。初回の調査で人口510人の内54%が提出したが、年齢分布は統計上一様でなく、年齢層により受検態度に差異があった。5回に亙る反復調査を行い91%を検査し、死亡、転出等を除外すれば96%の達成率となった。この結果を仮に真の成績と見なして、通常に行われている1回検査の成績と比較したが、鉤虫感染で13%と14%、鞭虫感染で25%と27%となり、調査規模が小さいために有意差は認めなかった。小さい集団では1回任意提出材料の検査で、集団の感染率を推定できると考えられた。非提出者の理由を質問紙で調べたら、止むを得ない理由によるものがほとんどで、受検拒否は15%であった。

1964年の調査成績と比較して、鉤虫感染は43%から13%に、回虫感染は32%から3%と著明な減少を認めた。糞線虫症は3%で、蟯虫感染は若年者に多く25%であった。腸管内原虫感染は少なく、アメーバ感染は3%であった。何らかの腸内寄生虫感染を示した者は45%であった。

## STUDIES ON MALAYAN FILARIASIS IN CHE-JU IS., KOREA

3 Microfilarial surface architecture of *Brugia malayi* (Che-ju strain)  
in comparison with that of *Brugia pahangi*

YOSHIKI AOKI, YASUO NAKAJIMA AND DAISUKE KATAMINE

Received for publication 20 May 1976

**Abstract:** Scanning electron microscopic observations have been made on the microfilariae of *Brugia malayi* and *B. pahangi* which already cast off their sheaths *in vitro*. The microfilariae of both species have striated appearances. *B. malayi* microfilaria varies in number of striations between 402 and 442 with an average of 423, and *B. pahangi* microfilaria between 443 and 485 with an average of 458. Except for the difference in number of striations, *B. malayi* presents close morphological resemblances to *B. pahangi*. The anterior end of the microfilaria forms the bluntly rounded cap provided with a wedge-shaped hook and two small pores. The hook measures 0.7-1.1 microns in length and projects backward. Of the two pores, one, rectangular in shape, exists at the center of the cephalic cap and the other, round in shape, lies between the base of the hook and the rectangular pore. Three fang-like spines are situated on the first annulus opposite to the hook side. The spines are equal in length, 0.6-0.7 micron, to one another. The spines usually point backwards, though they are occasionally directed forwards by the withdrawal of the cephalic cap into the cephalic space. The excretory pore lies on around the 150th annulus from the anterior end, but the opening of the anal pore has not been found in the present study. The tail tapers gradually showing striations, though near the end a few annuluses become expanded. The terminal appendage, connected to the last expanded annulus, is 6-7 microns long, club-shaped and striated.

It was already described that some morphological differences were discernible between *Brugia malayi* and *Brugia pahangi* at the microfilarial stage (Laing *et al.*, 1960; Schacher, 1962; Sivanandam *et al.*, 1966, 1972), the larval stages in mosquitoes (Beckett *et al.*, 1971, 1972), and the adult stage (Buckley *et al.*, 1956).

These papers dealt primarily with the characteristics of internal organs of the worms and the over-all lengths of the bodies. Only a few knowledge on the surface organs were derived from them. Recently, scanning electron microscope has been informing of some important structures on the surfaces of the helminthes, and Aoki and Katamine (1975) have pointed out some interesting surface organs on the microfilaria of *Dilofilaria immitis*.

In this paper, the fine surface structures of the microfilariae of *B. malayi* and *B. pahangi* are described, and a comparison is made on the microfilarial surface architecture between the two species.

## MATERIALS AND METHODS

Specimens of *B. malayi* microfilariae were obtained from the microfilaria carriers dwelling in Che-ju Island, Korea and those of *B. pahangi* microfilariae were recovered from the dogs infected experimentally. Because the microfilariae of both species were enclosed within delicate membranous sheaths, it was necessary to let them exsheathe in order to make the clear demonstration of the cuticular surfaces. Numbers of sheathless microfilariae were obtained as follows:

Hemolysis was attained by mixing venous blood with saline containing one per cent saponin, equal in volume. After repeated centrifugations and washing with saline several times, the microfilariae suspension was obtained. It contained numerous active microfilariae and a few blood components. Following the procedure that was described by Aoki (1971a, 1971b), the microfilariae suspension was spread over the agar pads in which saline was used as diluent. During the two hours incubation at room temperature, more than 50% of microfilariae cast off their sheaths. Sheathless microfilariae were recovered by washing out the surface of the agar pad.

Specimens were fixed in 5% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer, dehydrated in ascending series of acetone, and finally dropped over the 1 cm<sup>2</sup> glass slides for air drying. All specimens were rotary-coated in the vacuum evaporator with gold and examined with a JSM-U3 scanning electron microscope.

## RESULTS

On the cuticles of the microfilariae of the two species, there were numerous transverse striations running across regularly all over the body (Figs. 1, 2). As shown in Table 1, *B. malayi* microfilaria varied in number of striations between 402 and 442 with an average of 423, and *B. pahangi* microfilaria between 443 and 485 with an average of 458.

The anterior end of *B. pahangi* microfilaria had the appearance of a bluntly rounded cap, where three special external structures were recognized. One was

TABLE 1 Number of striations of microfilariae of *B. malayi* and *B. pahangi*

<i>B. malayi</i>	<i>B. pahangi</i>
440	443
434	455
412	468
434	450
406	445
442	482
402	445
432	476
407	

a single wedge-shaped cephalic hook. It extended backwards from one edge of the cephalic cap, probably on the ventral surface, and was 0.7 to 1.1 microns long. Others were two small pores. One of them was situated at the center of the cephalic cap. It was rectangular in shape and about 0.4 micron by 0.2. The other pore was round in shape. It measured 0.2 to 0.3 micron in diameter and lay just in the middle between the base of the hook and the rectangular pore. The rest was a bow-shaped groove on the side of the cephalic cap opposite to the hook (Fig. 3).

Each annulus presented a flat columnar or a disk-like appearance. Surface of the annulus was completely smooth and any special surface structure was not observed on all but the first annulus and the one where the excretory pore opened.

The fang-like spines lay at the posterior side of the first annulus opposite to the hook side, probably on the dorsal surface. Most of the *B. pahangi* microfilariae bore three spines lying a row transversely with regular intervals of 1 micron. The spines were almost equal in length to one another, measuring 0.6 to 0.7 micron. Some microfilariae, however, had only two spines, and others as many as four. The spines usually pointed backwards, though they were occasionally everted and directed forwards by the withdrawal of the cephalic cap into the cephalic space (Figs. 6-10).

*B. malayi* microfilariae were essentially identical in cuticular appearance of the cephalic region with *B. pahangi* microfilariae (Fig. 4). There were little differences in size and shape of hook, two pores and spines between the two species (Figs. 3-6). Interestingly enough the spines of *B. malayi* microfilariae were constant in number, fixed at three.

The excretory pore lay on the definite portion of around 150th annulus from the anterior end in the microfilariae of both species. It had a round opening and a diameter of 0.3 micron (Fig. 11). The microfilariae of two species did not differ in size and morphology of the excretory pore.

On the caudal surface of the microfilariae of *B. malayi* and *B. pahangi*, such an anal pore was not detected as evident in *D. immitis* microfilaria.

The tail tapered gradually showing regular striations, though the last three to four annuluses expanded abruptly into spheres, where grooves became shallow and obscure. The terminal appendage, 6-7 microns long, was connected to the last expanded annulus. It was club-shaped and had the characteristic striated appearance (Figs. 12, 13).

#### DISCUSSION

It has already been demonstrated that numerous transverse grooves exist on the cuticle of microfilaria at the level of either the light or the electron microscopy. Scanning electron microscopic observations have, for the first time, clarified the number of the striations engirdling the cuticular surfaces of the microfilariae of *B. malayi*, *B. pahangi* (present paper) and *D. immitis* (Aoki and Katamine, 1975). Both *B. malayi* and *B. pahangi* microfilariae have striations one and a half times as many as *D. immitis* microfilariae have. The number of the striations in *B. pahangi* microfilaria is somewhat greater than that in *B. malayi* microfilaria, and there is

no overlap in the range of numbers. This finding would be considered to be due to the fact that the former is somewhat longer than the latter (Laing *et al.*, 1960; Schacher, 1962).

Except for small differences in number of the striations, the general surface architecture of *B. malayi* microfilaria conforms exactly to that of *B. pahangi* microfilaria.

Laurence and Simpson (1968) demonstrated the hook and three spines at the anterior tips of both *B. malayi* and *B. pahangi* microfilariae by means of the special staining. The findings of the present study are not only in agreement with the results obtained by them, but also elucidate, for the first time, the three dimensional features and arrangement of these structures: The hook extends backwards from the cephalic cap and the spines extend backwards from the side of the first annulus opposite to the hook side. According to Laurence and Simpson, though the hook is observed in varieties of microfilariae, the spines seem to exist in the microfilariae of limited species only, varying in number from species to species. As reported previously by authors (1975), *D. immitis* microfilariae lack the spine. It is generally accepted that the species with sheathed microfilariae do not differ from those with sheathless microfilariae in the structure of microfilarial body itself. These results, however, suggest that the spines may be the characteristics of the sheathed microfilariae. For further studies into this problem, it is necessary to investigate the cephalic structures of many species of sheathed and sheathless microfilariae.

Another point of interest is that the number of spines is constant in the microfilariae of *B. malayi*, whereas it varies from two to four in those of *B. pahangi*. The significance of these is not yet fully understood.

From the observation on living microfilariae, Taylor (1960) reported the movements of the hook, and later Eslinger (1962) described in detail that the cephalic hook of *B. pahangi* was alternatively erected and relaxed at a varying rate. Evidence has been also provided in fixed microfilariae by Laurence and Simpson (1968). In the present study, all the three spines of some microfilariae which exsheathed *in vitro* have been found to be everted forwards by the withdrawal of the cephalic cap into the cephalic space. It is reasonable to presume that the further withdrawal of the cephalic cap may cause also the forward direction of the hook which has been observed by the previous authors. Anterior muscle cells which are probably associated with the hook have been demonstrated by Kozek (1971), McLaren (1972) and Tongu (1974) in the microfilariae of some species at the ultrastructure level. On the basis of available evidence it seems likely that the hook and spines are mainly instrumental in their exsheathing and penetrating into the midgut wall of mosquitoes.

The rectangular pore most probably corresponds to the opening of one of the paired cephalic channels which were reported in the microfilariae of several species by Kozek (1968, 1971) and McLaren (1969, 1972) as well as in those of *B. malayi* by Tongu (1974), judging from its location on the cephalic cap. The opening of the other cephalic channel seems to be hidden beneath the hook. The location of the round pore in the middle between the base of the hook and the rectangular pore suggests that it is in agreement with the opening of the buccal cavity reported by the previous authors. The openings of the anal pore and the caudal channels

which were described by Tongu (1974) have not been observed under the scanning electron microscope, probably due to the closure of the openings by dense materials like plugs. Another possible explanation of our failure to detect them is that the small pores might have been closed by the shrinkage of the worms during the dehydrating process.

Significant morphological difference in the tail has not been detected between the microfilariae of the two species belonging to the genus *Brugia*. *Brugia* microfilariae, however, differ markedly from the microfilaria of *D. immitis* in having the swollen last three to four annuluses and the striation of the terminal appendage. Thus, these results support the view that the caudal structures of the microfilariae afford an important clue to identify "genera", to say the least.

#### REFERENCES

- 1) Aoki, Y. (1971): Exsheathing phenomenon of microfilaria in vitro (I), *Trop. Med.*, 13, 134-140
- 2) Aoki, Y. (1971): Exsheathing phenomenon of microfilaria in vitro (II), *Trop. Med.*, 13, 170-179
- 3) Aoki, Y. and Katamine, D. (1975): Scanning electron microscopic observations on *Dirofilaria immitis* microfilariae, *Trop. Med.*, 17, 27-34
- 4) Beckett, E. B. and Macdonald, W. W. (1971): A method of differentiating *Brugia pahangi* larvae from *B. malayi* larvae, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 65, 271-272
- 5) Beckett, E. B. and Macdonald, W. W. (1972): The morphology of the rectal protrusion of *B. pahangi* and subperiodic *B. malayi* larvae as a method of differentiating between the two species, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 66, 135-141
- 6) Buckley, J. J. C. and Edeson, J. F. B. (1956): On the adult morphology of *Wuchereria* sp. (*malayi*?) from a monkey (*Macaca irus*) and from cats in Malaya, and on *Wuchereria pahangi* n. sp. from a dog and a cat, *J. Helminth.*, 30, 1-20
- 7) Esslinger, J. H. (1962): Behavior of microfilariae of *Brugia pahangi* in *Anopheles quadrimaculatus*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11, 749-758
- 8) Kozek, W. J. (1968): Unusual cilia in the microfilaria of *Dirofilaria immitis*, *J. Parasit.*, 54, 838-844
- 9) Kozek, W. J. (1971): Ultrastructure of the microfilaria of *Dirofilaria immitis*, *J. Parasit.*, 57, 1052-1067
- 10) Laing, A. B. G., Edeson, J. F. B. and Wharton, R. H. (1960): Studies on filariasis in Malaya: The vertebrate host of *Brugia malayi* and *B. pahangi*, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 54, 92-99
- 11) Laurence, B. R. and Simpson, M. G. (1968): Cephalic and pharyngeal structures in microfilariae revealed by staining, *J. Helminth.*, 42, 309-330
- 12) Laurence, B. R. and Simpson, M. G. (1971): The microfilaria of *Brugia*: A first stage Nematode larva, *J. Helminth.*, 45, 23-40
- 13) McLaren, D. J. (1969): Ciliary structures in the microfilaria of *Loa loa*, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63, 290-291
- 14) McLaren, D. J. (1972): Ultrastructural studies on microfilariae (Nematoda: Filarioidea), *Parasit.*, 65, 317-332
- 15) Schacher, J. F. (1962): Morphology of the microfilaria of *Brugia pahangi* and of the larval stages in the mosquito, *J. Parasit.*, 48, 679-692
- 16) Sivanandam, S. and Fredericks, H. J. (1966): The innenkorper in differentiation between the microfilariae of *Brugia pahangi* and *B. malayi* (sub-periodic form), *Medical Journal of Malaya*,

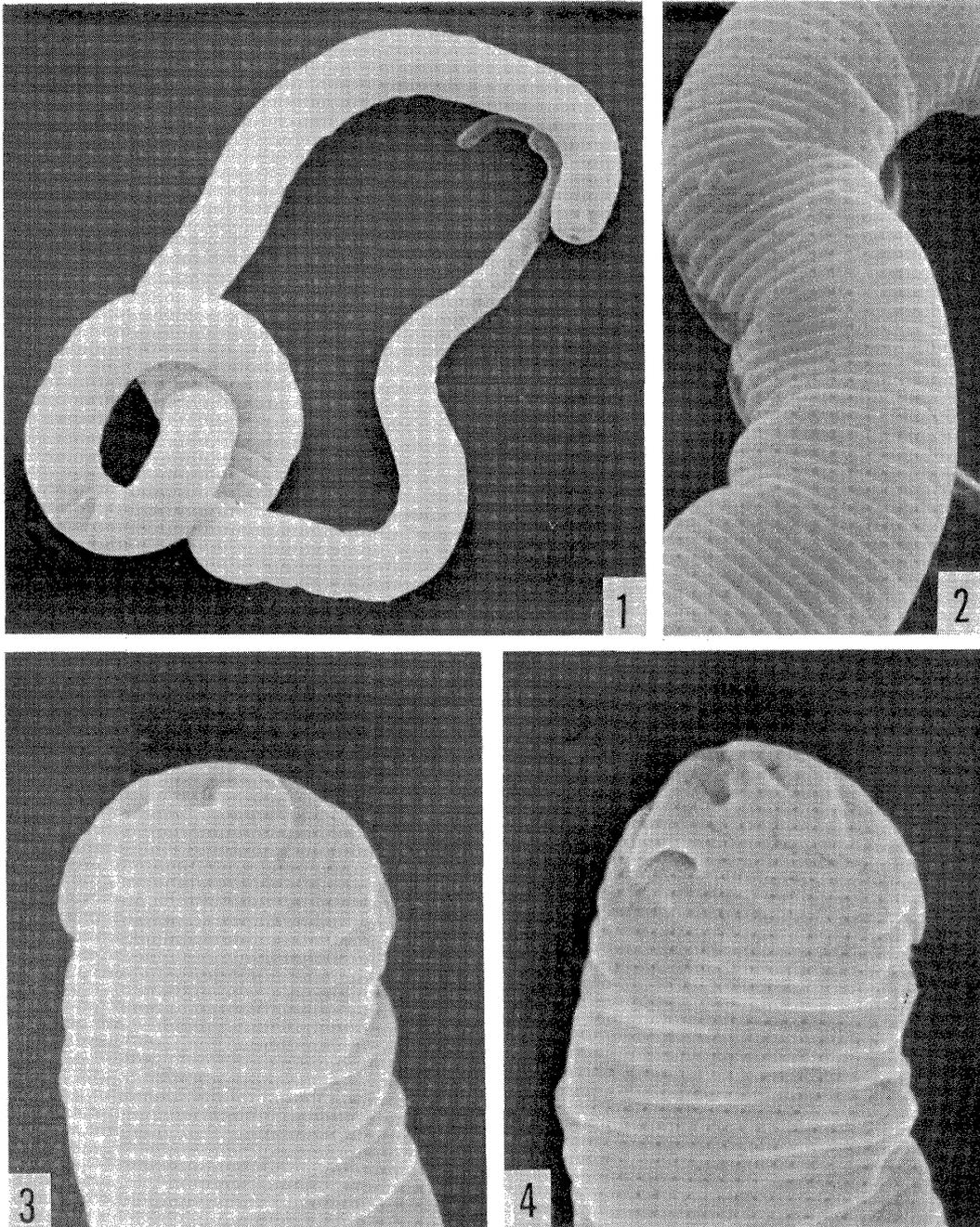
- 20, 337-338
- 17) Sivanandam, S. and Dondero, T. J. Jr. (1972): Differentiation between periodic and sub-periodic *Brugia malayi* and *Brugia pahangi* on the basis of microfilarial sheath-casting in vitro, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 66, 487-496
- 18) Taylor, A. E. R. (1960): Studies on the microfilariae of *Loa loa*, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Dirofilaria immitis*, *D. repens* and *D. aethiops*, *J. Helminth.*, 34, 13-28
- 19) Tongu, Y. (1974): Ultrastructural studies on the microfilaria of *Brugia malayi*, *Acta Medica Okayama*, 28, 219-242

### 韓国濟州島のマレー糸状虫に関する研究

#### 3 *Brugia malayi* (Che-ju strain) 仔虫と *B. pahangi* 仔虫の体表微細構造

青木 克己・中島 康雄・片峰 大助

生体外で脱鞘をおこした *Brugia malayi*, *B. pahangi* 仔虫を走査電顕にて観察し、その体表微細構造を観察した。両種とも角皮表面には多くの輪状溝が存在し、その数は *B. malayi* で 402-442 (平均 423), *B. pahangi* で 443-485 (平均 458) であった。*B. pahangi* 仔虫で輪状溝数がやや多いことを除いては、両種仔虫の間には基本的体表構造の違いは認められなかった。仔虫頭端は半球状を呈し、1本の鉤と2つの小孔が存在する。鉤は“くさび”状、0.7-1.1  $\mu$  の長さで、後方にのびる。2つの小孔の内、1つは矩形で頭端部の中央に存在し、他の1つは円形で鉤基部と矩形小孔の間に存在する。半球状頭端に続く第1体環の鉤と対側面には3本の刺突起がみられる。その長さは互に等しく、0.6-0.7  $\mu$  である。刺突起は通常は後方に向かっているが、時折、頭端部が虫体内方に陥凹して、刺突起が前方に反転している虫体が観察された。排泄孔は頭端より約150番目の体環に開くが、肛門孔は本観察ではみられなかった。尾部は輪状溝構造を保ちながら徐々に細くなるが、最後の数個の体環は膨腫する。この膨腫した最後の体環に長さ6-7  $\mu$  の棍棒状尾端部が続く。ここにも著明な輪状溝がみられる。



- Fig. 1 General profil of *B. pahangi* microfilaria.  $\times 2,000$   
 Fig. 2 Transverse striation at midportion of *B. malayi* microfilaria.  $\times 6,000$   
 Fig. 3 Anterior end of *B. pahangi* microfilaria showing the hook, the spines and the two pores.  $\times 12,000$   
 Fig. 4 Anterior end of *B. malayi* microfilaria.  $\times 12,000$

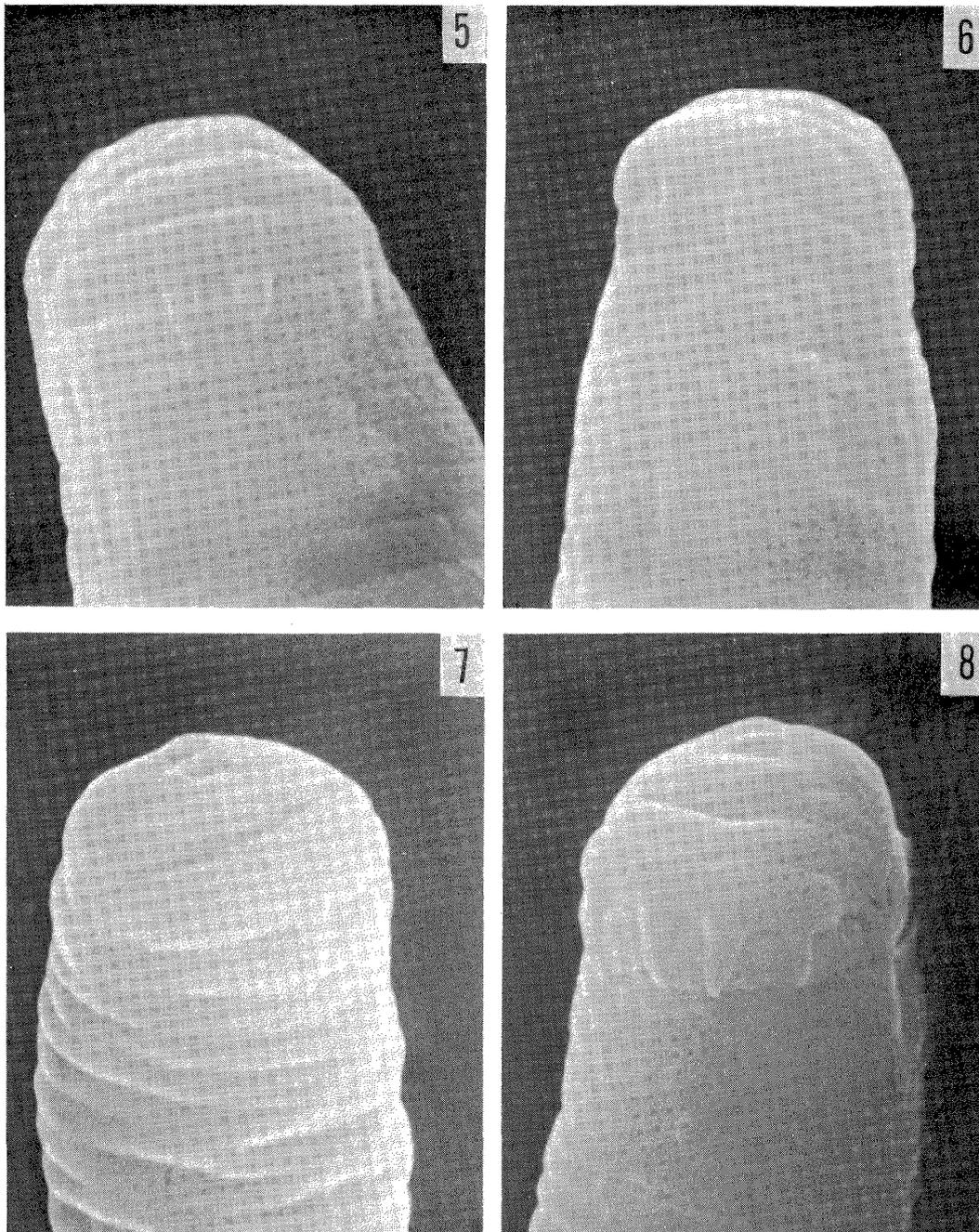


Fig. 5 Three spines on the first annulus of *B. malayi* microfilaria.  $\times 18,000$

Fig. 6 Three spines on the first annulus of *B. pahangi* microfilaria.  $\times 14,000$

Fig. 7 *B. pahangi* microfilaria with two spines.  $\times 14,000$

Fig. 8 *B. pahangi* microfilaria with four spines.  $\times 14,000$

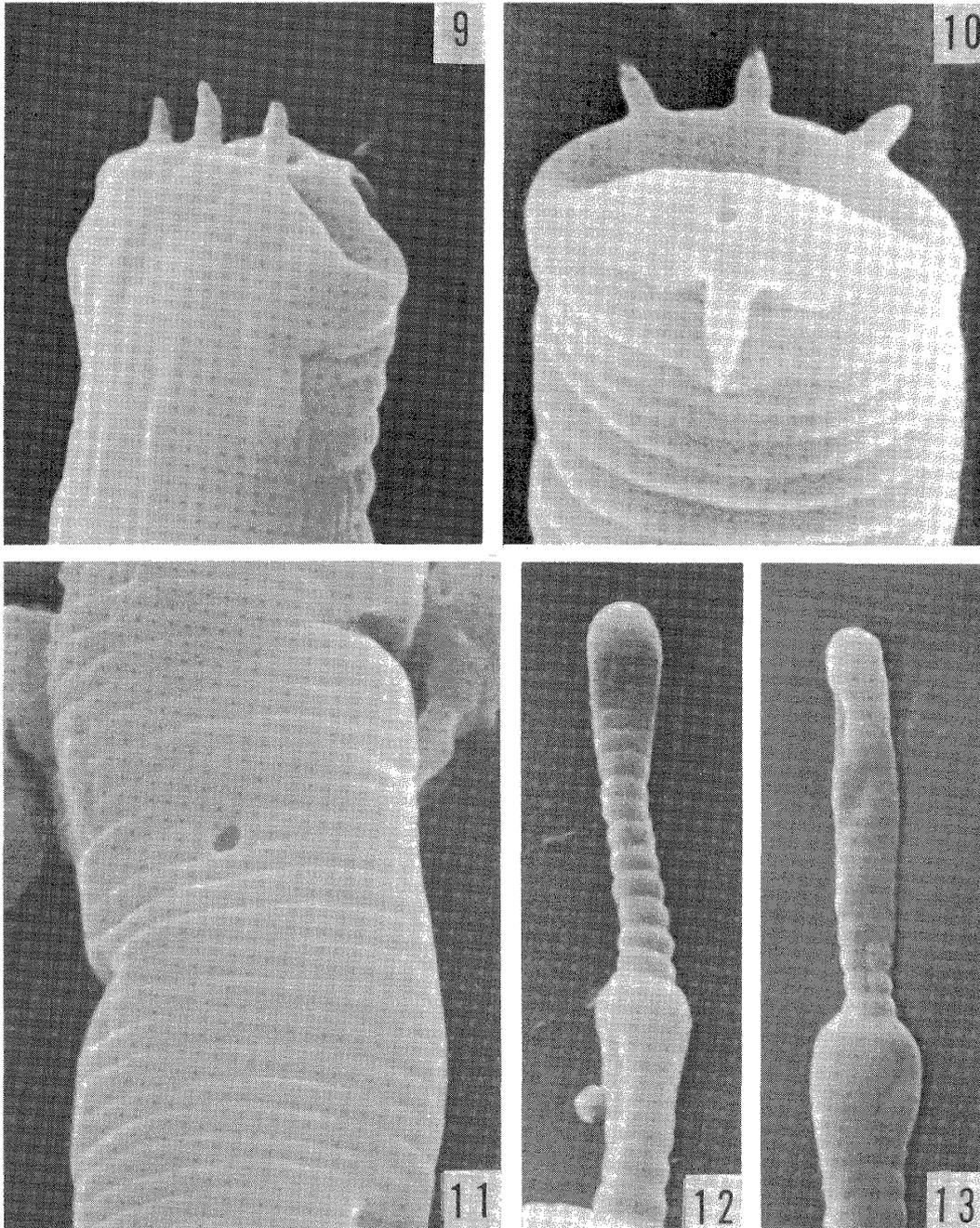


Fig. 9 and 10 Erected spines of *B. pahangi* microfilaria.  $\times 14,000$ ;  $\times 16,000$

Fig. 11 Excretory pore of *B. malayi* microfilaria.  $\times 10,000$

Fig. 12 Tail of *B. malayi* microfilaria.  $\times 8,000$

Fig. 13 Tail of *B. pahangi* microfilaria.  $\times 8,000$

## 脳の黒色真菌症の1例

西本 勝太郎<sup>1</sup>・森山 忠良<sup>2</sup>

昭和51年5月22日 受付

### はじめに

黒色真菌症は、はじめ主に中・南米の熱帯地方において数多くの症例が見出されたことから、代表的な熱帯性皮膚疾患と考えられていた(高橋, 1937)。しかるに最近、わが国において比較的多数の本症の報告が見られるようになり、さらにこの中に、諸外国に比して高頻度の内臓転移例が含まれることが明らかになってきた。

最近著者らは、皮疹をまったく伴わない、脳および腎病変をもつ本症の1例を経験したので、これまでの本邦症例のまとめとともに若干の考察を加えて報告する。

### 症 例

病歴: S. A. 1939年9月3日生 女 長崎市在住

家族歴に特記すべきものはないが、既往に29歳時慢性気管支炎, 33歳時糖尿病などがある。

1974年春, 患者が34歳の時, 夜間に後頭部痛が出現, 次第に増強するとともに8月中旬より複視と右眼の視力低下があらわれた。

約2週間の寛解ののち, 同11月再び複視が生じて来たため長崎市内某病院内科に入院。ここで軽度の左半身運動不全麻痺, 両側のうっ血乳頭, 両側眼球運動障害が認められ, 脳幹部腫瘍の疑いで1975年1月6日, 長崎大学脳神経外科へ転科してきた。

入院時現症: 体格中等度, 栄養良, 体温36.8 C, 皮膚, リンパ節および肝脾に異常を認めない。胸部聴診上, 全肺野に湿性ラ音が聞かれた。

神経学的所見: 意識は傾眠状態で, 左半身運動不全麻痺, 両側うっ血乳頭, 左小脳性失調症, 両側の動眼・滑車および外転神経の不全麻痺。

血液および生化学的検査所見: RBC  $455 \times 10^4$ , Hb 13.7g/dl, Hct 40.8%, WBC 9,200, T-Bilirubin 0.4, T-Protein 7.4g/dl, GOT 12, GPT 13, TTT 1.3, Kunkel 3.2, Ch-E 0.71, ムコ蛋白 22.8 g/dl, Na 135mEq/l, K 4.3, Cl 98, ESR 1時間42, 2時間73と促進, IgG 1,120mg/dl, IgA 256, IgM 87(↓), 50g GTT で糖尿病パターン, 胸部 X 線像は全肺野の含気量が低下し慢性気管支炎が疑われ, 喀痰培養で *Klebsiella pneumoniae* の増殖を認めた。

入院後の経過: 入院時傾眠であった意識レベルは次第に悪化の傾向を示した。また臨床所見および脳血管撮影など各種補助検査で右頭頂部, 脳幹部などの多発性病変を示唆していることから転移性脳腫瘍を疑い, はじめ外科的治療の適応なしと考え, 副腎皮質ステロイドを投与したにもかかわらず意識レベルは更に低下し半昏睡となったので, 右頭頂部腫瘍の摘出を試み, 頭蓋内圧の軽減を計る目的で開頭術を行った。

2月19日の頭頂後頭開頭術(第1回)時, 右頭頂部皮質下に, 一部露出した径約3cm大の黒色球形の腫瘍がみられ, これは容易に剝離することが出来た。この腫瘍の断面も黒色で, 半輪状多層の結合織性被膜を有し, 中心部に灰色の膿汁様物質が少量存在した(写真1)。また同時に右側頭脳室三角部内側壁下に存在した小指頭大の腫瘍を摘出したが, いずれの腫瘍とも迅速凍結切片にて黒色真菌症の診断をえるとともに, 同院皮膚科において培養を行い, 後述するように *Phialophora pedrosoi* が分離された。術後の脳室内への薬剤投

1 長崎大学医学部皮膚科学教室 2 同脳神経外科学教室

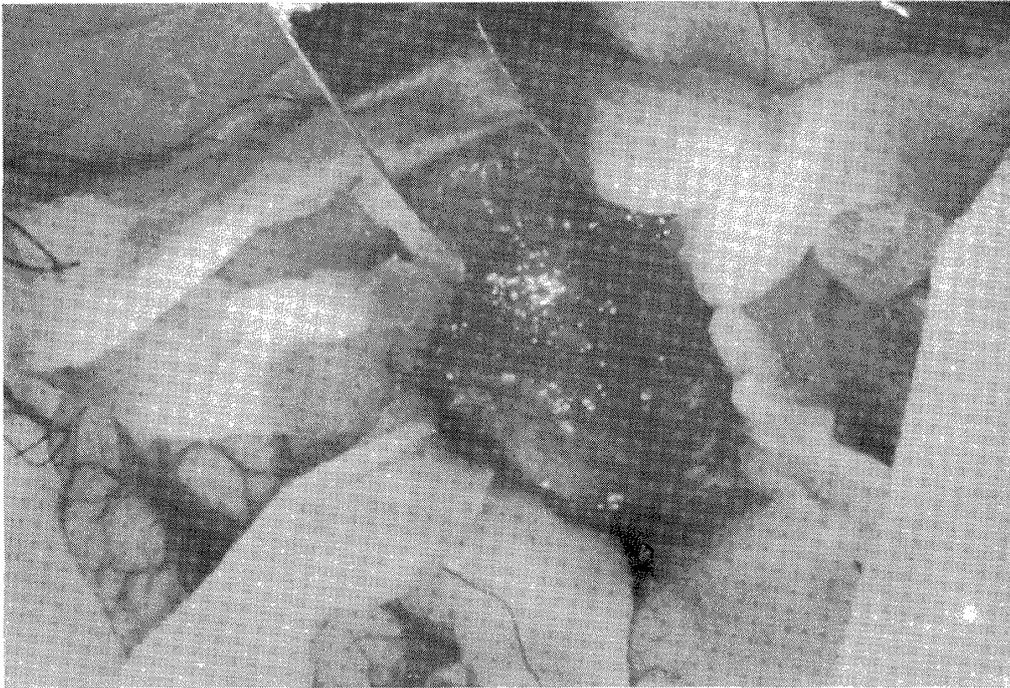


Photo. 1 Chromomycotic lesion seen at craniotomy.

Note the brown, encapsulated granuloma with central necrosis.

与および脳室液の排除を目的とし、デンプー脳室チューブを側脳室内へ挿入し、リックムリザーバーへ連結、閉頭した。

術後は 5-Fluorocytosine (以下 5FC と略す) 200mg/kg/day (8g/day) を経鼻チューブより投与した。5FC 投与後(術後)約3週間で血液、髄液および尿の培養で *Ph. pedrosoi* の発育は認められなくなり、またこの間諸臓器の機能検査にも異常は認められなかった。この間患者の全身状態は次第に改善され、意識レベルの上昇および四肢の運動も活発となったが、術後2カ月目より再び意識レベルの低下を来した。リックムリザーバーの閉塞と側脳室隔壁形成による孤立性拡大が著明となったので、再び前回同様、右頭頂後頭開頭術を行った。前回の腫瘍摘出部は軽度の瘢痕を認めるのみで感染再発の所見はなく、またこの際、側脳室内壁下の腫瘍摘出部を含めて脳内各所よりの培養を行ったが黒色真菌は分離出来なかった。

第2回手術後は意識レベルの改善もなく、気管支肺炎の増悪により6月7日死亡した。

剖検により脳内各所の多発性黒色真菌症病巣の

ほか、肺、肝、腎に孤立性の、転移性と思われる病変をみたが、リンパ節、皮膚などには病変はなかった。これらの詳細については別稿にて報告の予定である。

真菌検索成績：脳実質および硬膜における病巣は、大小の差はあるがいずれも円ないし球状で、脳表面および剖面は淡灰褐色をなし、軟らかく、いくつかのものは中心部が壊死に陥っているが、周囲は線維状の被膜にとりまかれている。壊死物中には顆粒は認められない。

HE 染色標本では、病巣はいずれもほぼ円形をなし、その周辺部には円形細胞、巨細胞よりなる肉芽組織が見られるが、中心部は細胞成分に乏しく、脳実質は壊死に陥っている。菌はこれらのいずれの部位にも豊富に認められ、少数の径  $20\mu$  におよぶ大型、濃い褐色の細胞壁をもつ胞子と、巾  $5\sim 10\mu$  の、隔壁をもつ種々の長さの菌糸が存在する。これらの菌体の形態は、手術時や剖検時に得られた病的材料を、KOH 液標本によって検鏡しても認めることが出来る。

これらの材料および尿より原因菌の分離は容易

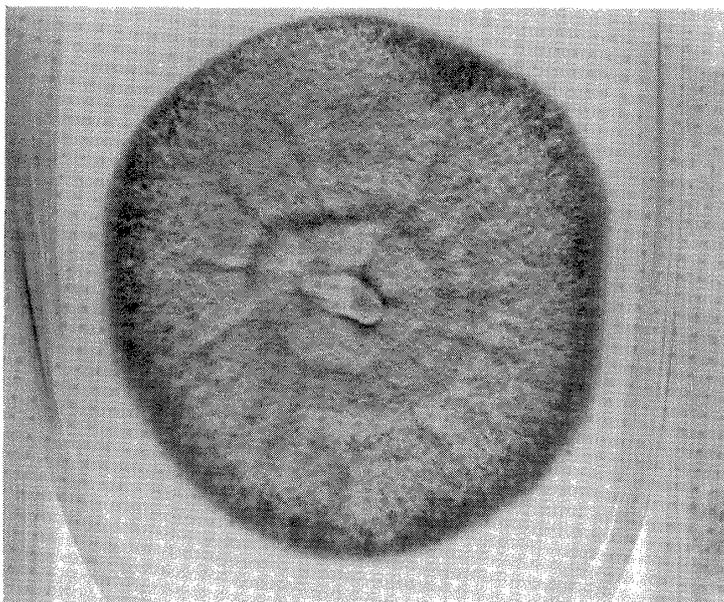


Photo. 2 *Phialophora pedrosoi*, 30 days on Sabouraud's dextrose agar.

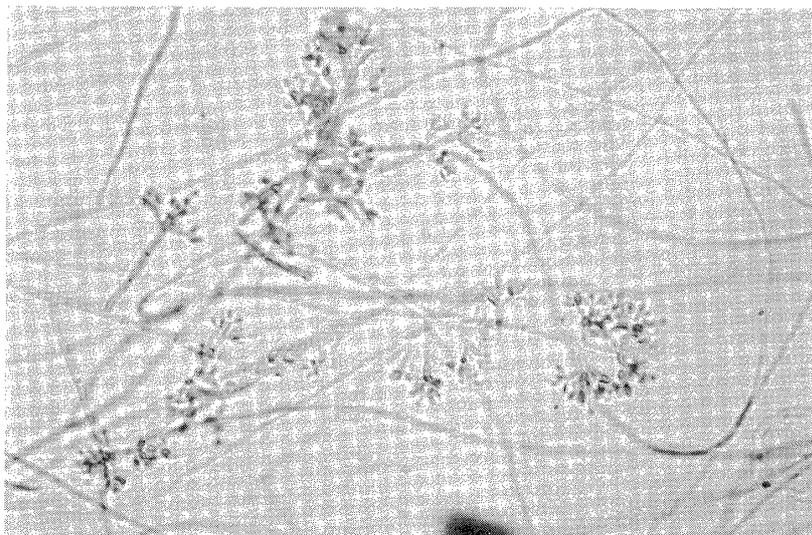


Photo. 3 Slide culture findings on Sabouraud's dextrose agar.  
Only "Cladosporium-type" sporulation were observed.

である。すなわち尿はそのまま Sabouraud 培地上に塗抹，実質組織は滅菌小ハサミを用いて粟粒大ほどに細切し，Sabouraud 培地上に接種し，25 C にて培養すると，4~5 日後には，これらから淡緑色の菌糸が生えてくるのが見られる。この菌の発育は比較的早く，巨大培養では約30日後に径 5~6cm に達する黒色，絨毛状の平らな集落を作る。裏面は黒色に着色する。

スライド培養では，分岐した菌糸の先端より連鎖状の胞子を生ずる，いわゆる Cladosporium 型の分生子形成のみを示し，以上よりこの菌を *Phialophora pedrosoi* と同定した（写真 2，3）。

#### 考 察

黒色真菌症 (Chromomycosis) または黒色分芽

TABLE 1 Cerebral chromomycosis cases reported from Japan

Case No.	Age Sex	Duration	Skin Lesions	Manifestations	Causative Organisms	Surgical operation or Autopsy Findings	Reference
1	8 f	5 ms	r. cheek nose	headache, nausea, vomiting, l. hemiplegia, paralysis of l. eye-lid	<i>Ph. pedrosoi</i>	brain	Fukushiro (1960)
2	3.5 f	3 ds	(—)	tonic spasm, pathological reflexes, coma, fever, abdominal pain, hepatomegaly	—	l. liver lobe, brain, mesenterium, intestine, kidney	Sasano (1961)
3	30 f	3 ms	(—)	headache, l. hemiplegia, vomiting, hyperactivity, l. facial palsy, horizontal nystagmus	<i>Ph. dermatitidis</i>	brain, especially perivascular	Shimazono (1963)
4	15 f	1 m	(—)	fever, aphtha, headache, vomiting, anorexia, somnolence	—	meninx, brain, kidneys, mesenterium, intrathoratic lymphnodes	Urabe (1971)
5	19 m	1 m	trunk, thigh preceded by intracranial lesions	mental deterioration, weakness of legs	<i>Ph. dermatitidis</i>	brain, liver, lymphnodes of thorax, mesenterium	Hirayama (1971)
6	17 m	6 ms	(—)	malaise, headache, diplopia papilledema, pain of r. back and r. arm	<i>Ph. pedrosoi</i>	brain, spinal cord, lymphnodes of neck and axilla	Takahashi (1972)
7	12 m	5 ms	(—)	malaise, anorexia, vertigo	<i>Ph. pedrosoi</i>	brain, ileum, lymphnodes	Machida (1972)
8	10 m	1.4 ys	l. upper eye-lid	meningism, somnolence	<i>Ph. pedrosoi</i>	neck and hilar nodes, lung, brain	Hocchi (1972)
9	15 m	5 ys	trunk and arms	shadow of l. pulmonal area, r. hemiplegia, speech disturbance	<i>Ph. dermatitidis</i> (viscera) <i>Ph. gougerotii</i> (skin)	skin, brain, lung, liver, lymphnodes of mesenterium	Harada (1972)
10	34 f	14 ms	(—)	headache, diplopia, l. hemiplegia, papilledema, disturbances of cranial nerves (III, IV, VI)	<i>Ph. pedrosoi</i>	brain, spinal cord, lymphnodes of mesenterium kidney, liver, lung	Nishimoto (1975)

菌症 (Chromoblastomycosis) は、黒色の集落を作る数種の真菌群によって起こされる、主に皮膚の感染症である。はじめは、その組織内での形態や、他の分芽菌症 (カンジダ症やクリプトコッカス症) との関連などより、黒色分芽菌症と呼ばれたが、後に、組織内において必ずしも分芽胞子を作らないことより、黒色真菌症の病名が一般に用いられるようになった。

これらの菌は広く自然界に分布し、外傷などによって皮内に接種され、増殖、発病に至るものと考えられている (Conant ら, 1971)。それゆえ、元来この疾患の多い中南米の低緯度地帯では、殆んど症例が戸外労働に従事する男性であり、また部位的には下肢が殆んどを占めている。

皮膚の症状は、一名疣状皮膚炎と呼ばれるように、疣状、乳頭状の増殖性潰瘍を作るが、ときにこれより所属リンパ節への転移がみられている。

これに対してわが国においては、症例の男女比に差がなく、また好発部位も肩、上肢であるなど、まったく異った様相を示している (荻谷ら, 1974; 西山ら, 1973)。さらに20歳以下の例が少なからず見られることと、表1に示したように内臓転移例の頻度が高いことが、わが国における黒色真菌症の大きな特徴となっている。

また原因菌に関しては、わが国においても *Ph. pedrosoi* がもっとも多く分離されており、これは諸外国よりの報告とほぼ一致するが、その他 *Ph. dermatitidis* や *Ph. verrucosa* が少数見られ、この *Ph. dermatitidis* の率が高いこともまた、1つの特徴と思われる。

最近 Ajello ら (1974) は、*Ph. parasitica* による皮下の膿瘍例を報告し、このような、組織内に菌糸型をもって寄生する皮下膿瘍型の黒色菌症

を *Phaeohyphomycosis* と名づけ、従来多くの報告のある、皮膚に疣状病変をつくり、菌はこの中で大型の円形胞子 "Sclerotic cell" として存在する黒色真菌症または黒色分芽菌症から区別した。この病名は、さきに Mariat ら (1967) の唱えた *Phaeosporotrichose* という病名が、明色菌の感染である *Shorotrichosis* との混同ないしは関連を思わせて好ましくないとの判断からこのように改めたものであり、彼らはこのような病型を生ずる菌として表2に示すようなものをあげている。このような分け方ないしは病型は、従来の黒色真菌症との臨床、菌学的な差を示すことから一応妥当なものではあるが、ただ彼らがあげた菌の中の *Ph. dermatitidis* は、また一面通常の黒色真菌症の病変をも生ずることから、たとえばわが国のように、この菌の分離される頻度が比較的高い所では、これらの区別が不明瞭となってくるのは避けられない。この *Phaeohyphomycosis* に一致する症例は、わが国においても約30例が見られている。

さらに黒色真菌症の場合でも、内臓転移例においては、転移病巣は膿瘍を作ることが多く、菌はその中で菌糸型をとるのが通例であり、わが国において内臓罹患例の頻度が高いことは、ますますさきにあげた両病型の境界を不明確にする。

わが国における内臓罹患例は、著者の集録した範囲では、全黒色真菌症症例約130例中21例であり、これは Azulay ら (1959) の2/261例などに比して圧倒的に高い。表1にこれらのなかから、脳病変を生じた症例を一括して示した。

年齢分布をみると10歳以下が2例、10歳台が6例と圧倒的に若年者に多く、この傾向は外国での報告に一致している。

原因菌は5例の *Ph. pedrosoi* の他、3例の *Ph.*

TABLE 2 Genera and species of fungi currently known to cause phaeohyphomycosis (Ajello *et al.*, 1974)

<i>Cercospora apii</i>	<i>P. gougerotii</i>
<i>Cladosporium bantianum</i>	<i>P. richardsiae</i>
<i>Dactylaria gallopava</i>	<i>P. spinifera</i>
<i>Drechslera hawaiiensis</i>	<i>Phoma</i> sp.
<i>Phialophora dermatitidis</i>	

*dermatitidis* が見られている。全体の症例数が少ないため確定的なものではないが、一応わが国においては *Ph. dermatitidis* の頻度が高いのではないかと思われる。これは一面、黒色真菌症全症例の原因菌の比率とも一致しているが、さきにも述べたように、この *Ph. dermatitidis* の人体諸器官への侵襲性については、さらに症例の蓄積をまっ検討する余地があるものと思われる。

これらの原因真菌の、外界または皮膚よりの他器官への伝播経路および脳への侵入経路についてはまだ推測の域を出ない。表1の症例8においては皮膚から所属リンパ節への転移があり、また症例9にも見られるように、症例によっては一応リンパ流を介するものもあると思われる。一方著者の一人西本(1975)は、全身の多発性の黒色真菌症症例において、血液の培養により菌の生育をみており、とくに脳への転移に際しての血行の果たす役割は大きいものと思われ、また脳内の病変が多発性であることもこれを裏付ける。

一方表1に示すように、脳転移10例中6例において、皮膚、粘膜を含めて原発巣と思われる病変は見出されていない。自験例においても、肝、腎の病巣は転移によるものと解釈すべきであろう。このような症例における菌の侵入門戸については、著者らはクリプトコッカス症などと同じく一応上気道を考えているが、まだこれを明らかに示した症例はなく、また適当な抗原——すなわち特異性と力価において満足出来る抗原が入手出来ないこともあって、皮内反応などによって不顕性感染を

確かめることは出来ない。

脳内の病変は多発しているのを常とし、これも転移性のものであることを裏付けるが、このため診断手技上、多発性の頭蓋内腫瘍、転移性腫瘍との鑑別が問題となる。神経学的症状のみでは両者の鑑別は不可能であり、また脳脊髄液にも特に認むべき変化はなく、脳脊髄液よりの真菌の培養も陰性に終ることが多い。一般の臨床検査所見においては、かなりの頻度で末梢血に好酸球増多が認められている。

以上のような点より、皮膚病巣の存在を別とすれば——本邦において表に示した症例の他に、福代ら(1960)、占部ら(1967)の2症例が、皮膚の病変とともに脳症状を示しており、一応脳の黒色真菌症とされているが、著者の調べた範囲では、手術や剖検などによる確認がなされていないため、ここでは省いた。臨床症状や検査所見のみから本症を疑うことは非常に困難であり、また病変の部位からしても内臓病変をもつ本症の予後が悪いものとなるのは当然である。わが国における脳転移例は殆んどが数カ月以内に死の転帰をとっている。それゆえ今後は本症の皮膚または粘膜における初期病巣の早期発見と治療とともに、これと併行して、血清学的、免疫学的な診断法による脳を含めた内臓の本症の早期発見が大きな課題となるものと思われる。

(野北教授、森教授のご指導、ご校閲に深謝する)。

## 文 献

- 1) Ajello, L., Georg, L. K., Steigbigel, R. T. and Wang, C. K. (1974): A case of phaeohyphomycosis caused by a new species of *Phialophora*, *Mycologia*, 66, 490-498
- 2) Azulay, R. D. und Azulay, J. D., (1959): Einige Betrachtungen zur Chromoblastomycose, *Hautarzt*, 10, 459-463
- 3) Conant, N. F., Smith, D. T., Baker, R. D. and Callaway, J. L. (1971): *Manual of clinical mycology*, 3rd ed. p. 503
- 4) 福代良一, 香川三郎 (1960): 黒色分芽菌症, 皮膚科最近の進歩 (第 III 集), 217-249, 医歯薬出版
- 5) 原田誠一, 植田時司, 楠 俊雄 (1972): Chromomycosis, *真菌誌*, 13, 135
- 6) 平山章彦, 高橋伸也, 笠井達也 (1971): 肝および脳に主病巣をもつ Chromoblastomycosis の

- 1 例, 真菌誌, 12, 237
- 7) 発地雅夫 (1972): 広汎な内臓病変を示す Chromoblastomycosis の 1 剖検例, 真菌誌, 13, 134
  - 8) 苅谷英郎, 川上寛子 (1974): Chromomycosis の 2 例と本邦報告例について, 皮膚臨床, 16, 647-655
  - 9) 町田信夫, 菅沼明人, 倉田 浩, 直江史郎 (1972): Chromoblastomycosis の一部検例, 真菌誌, 13, 134
  - 10) Mariat, F., Segretain, G., Destombes, P. et Darasse, H. (1967): Kyste Sous-cutane Mycosique (Phaeosporotrichose) a *Phialophora gougerotii* (Matruchot, 1910) Borelli, 1955 Observe au Senegal, Sabouraudia, 5, 209-219
  - 11) 西本勝太郎, 山浦英明, 前島和樹, 船元富美子 (1975): 5-Fluorocytosine による黒色真菌症の治療経験, 西日本皮膚科, 37, 397-403
  - 12) 西山芳夫, 石橋 明 (1973): ケロイド様外観を呈したクロモマイコーシスの経験例と本症の予後について, 皮膚臨床, 15, 549-555
  - 13) Sasano, N. and Okamoto, T. (1961): An autopsy case of primary chromblastomycosis arising from the internal organs, Tohoku J. Exper. Med., 73, 180-190
  - 14) Simazono, Y., Osaki, K. and Torii, H. (1963): Brain abscesses due to *Hormodendrum dermatitidis* (Kano) Conant, 1953, Folia Psychiat. Neurol. Jap., 17, 80-96
  - 15) 高橋 宏, 佐々木皎, 新井紀元, 塚本 泰, 佐藤 修 (1972): 脳脊髄に発生した Chromoblastomycosis の 1 例, 脳と神経, 24, 1163-1167
  - 16) 高橋吉定 (1937): Chromoblastomycose に就て (第 1 報), 日本皮膚科学会雑誌, 41, 153-177
  - 17) 占部治邦, 安元健児, 中島権一 (1967): 脳転移を伴なうと考えられる Chromoblastomycosis, 皮と泌, 29, 1012-1021
  - 18) 占部治邦, 名嘉真武男, 中原哲士, 津田真吾, 池田健伍, 坂本和彦, 渡部 嵐 (1971): クロモブラストマイコーシスの剖検例, 真菌誌, 12, 237

## A CASE OF CEREBRAL CHROMOMYCOSIS

KATSUTARO NISHIMOTO<sup>1</sup> AND TADAYOSHI MORIYAMA<sup>2</sup>

Received for publication 22 May 1976

A 34-year-old female patient visited Nagasaki City Hospital because of increasing headache and diplopia on the 29th of November 1974. Clinical diagnosis of intracranial tumor was made on physical examinations and she was admitted to Nagasaki University Hospital for surgical operation of the tumor. At the craniotomy, multiple spherical, grey to dark brown nodules were seen scattered in the brain tissues (Fig. 1) and histological examination revealed numerous brown fungal spores and hyphae in necrotic area surrounded by granulomatous reaction and *Phialophora pedrosoi* were isolated by culture using Sabouraud's agar slants (Figs. 2 and 3). The patient was treated with oral administration of 5-Fluorocytosine with temporary improvement and she died of bronchopneumonia on the 7th of June 1975. On autopsy, multiple fungus granulomata were seen in the brain and also in the kidney but there were no skin or mucous membrane lesions. In Japan, 10 cases of cerebral chromomycosis have been reported up to 1975, and they are summarized in the table and discussed.

---

1 Department of Dermatology, 2 Department of Neurosurgery, Nagasaki University School of Medicine.

## 九州熱帯医学シンポジウム第6回学術集会講演要旨

と き: 昭和50年1月15日(水)

と ころ: 九州大学同窓会館

世話人: 九州大学医療技術短期大学部 神中 寛

### 現 地 報 告

- 1 沖縄診療10年の反省  
福島 康正, 古野 純典
- 2 アフリカ雑感  
片峰 大助
- 3 イランの医療事情  
尾辻 義人, 有馬 桂  
中島 哲, 佐藤 八郎
- 4 東南アジアをめぐる  
武谷 健二
- 5 フィリピンでの医学生との交流  
桑原 敏真, 横山 繁生, 紺田 信

### シンポジウム

- アルボウイルス, とくにその疫学を中心として  
司会 森 良一
- 1 日本におけるアルボウイルスの疫学  
大谷 明
  - 2 日本脳炎ウイルスの生態  
三舟求真人
  - 3 東南アジアのデングとその疫学  
堀田 進
  - 4 日本脳炎ワクチンの現況  
山田 昭

### 特 別 講 演

- 1 東南アジアのマラリア  
中林 敏夫
- 2 中南米の肺吸虫  
宮崎 一郎

## 現地報告

### 1 沖縄診療10年の反省

福島 康正 (九大・医・衛生)  
古野 純典 (九大・医・公衛)

九州大学医学部熱帯医学研究会は、海外への調査団派遣、各国との学術交流等により医学の発展に寄与し、人類への貢献を目的として、学生により自主的に1965年に結成された。

結成の初期には、主に寄生虫の浸淫状態調査等を中心に、奄美大島、八重山群島において活動をしたが、1967年からは現地の医療事情を考え、調査と同時に診療活動を行い、単年で終了するのではなく、健康上の中心的問題点を探し出し、出来ればそれを解決して、その地区における活動を終了するようにした。その結果、石垣島裏石垣では、政府特定地域に指定され、我々の活動が評価された。その後西表島西部地区においても、同じような主旨で4年間の調査・診療を行い、現在は与那国島で、特に保健婦と協力して、成人の高血圧対策、及び管理を続けている。

以上のような活動の歴史はありながら、本会は元来、学生中心の会であるため、診療活動が続けるには、本会卒業者の協力が必要であるが、いまだに十分な協力を得ることは難しく、また調査・診療団の派遣費用の面でも、苦しい立場にあるのが現状である。

### 2 アフリカ雑感

片峰 大助  
(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

「ケニア国に於ける住血吸虫症の研究」の題目のものとの文部省特別事業費を得て1974年から3カ年の計画にてケニアの流行現地に於いて住血吸虫症の研究を行うことになった。

ケニア国に於ける人の住血吸虫は *S. mansoni*, *S. haematobium* の2種であるが全国での感染者は少なくとも100万を下らないと推定され、その感染率は全人口の10%にも達する高いものと考えられる。このうち *S. haematobium* の流行は東海

岸地帯、Tana River の流域に最も高い浸淫がみられ、Eastern, Central, Western 及び Nyanza Province に散在的な流行がみられる。また Kisumu, Taveta, Machakos, West District には *S. mansoni* との混在流行がみられる。一般に *S. haematobium* は標高 1,800m を越す地域では少ないといわれる。*S. mansoni* は Lake Victoria, Kanyaboi, それに Lake Jipe の沿岸に高い流行が見られる。そのほか *S. mansoni* は Nairobi 周辺 Machakos, Makindu に至る Athi River の流域に見られる。近年 Central Province に於ける水田の開発と住民の移入に従ってその流行が急速に拡がりをみせ、その対策が問題となっている。これらの成績は一部を除き主として学校集団を対象とした抽出調査の成績で、流行の詳しい実態は明らかでない。

尚、全アフリカに存在する住血吸虫の種類は *S. haematobium* Bilbay 1852, *S. mansoni* Sabon 1907 のほか *S. m. var. rodentorum* Schwez 1953, *S. rodhaini* Brumpt 1931, *S. intercalatum* Fisher 1934, *S. matthei* Veglia and Le Roux 1929, *S. bovis* (Sonsino 1876) の5種が記載されている。

研究の目的はアジア各地にある日本住血吸虫症に関する種々の経験と実績をもととしてアフリカにあるマンソン住血吸虫、ビルハルツ住血吸虫症との比較研究を行うことにある。住血吸虫症の研究の歴史はきわめて古く、各地の研究者の間で広く行われてきたが、それぞれの流行地にある種のみが対象となりその生物学、疫学、病理、臨床の面からの重要な問題について各種間の比較という観点からの研究は必ずしも多くない。人体に寄生する住血吸虫は種によりその形態、発育史、伝搬貝類の種類、寄生部位、病原性、症状及び化学療法剤に対する抵抗性などにも相違が認められ、自然界に於ける伝搬の疫学相にも大きな違いがあるように思われる。アフリカにはこのほか、多数の動物住血吸虫が存在し、人住血吸虫の人体への感染成立に陰に陽に複雑な影響を及ぼしていることが考えられる。これら各種住血吸虫及びその病変の比較研究は住血吸虫症の研究に学問的体系を与えるというだけではなく、大自然を背景とした防圧、

撲滅対策を確立する上でもきわめて重要な基礎的資料を提供するものと考えられる。

### 3 イランの医療事情

尾辻 義人, 有馬 桂  
中島 哲, 佐藤 八郎  
(鹿児島大・医・第二内科)

我々は1974年1月と9月にイランを訪問し、医療事情を調査する機会があったのでその概要を報告する。

イランは紀元前6世紀、大ペルシア帝国を建設した国で、現在のイラン国が独立したのは1925年である。アジア大陸の南西部に位置し、国の面積は日本の約4.5倍であるが、国土の8割は砂(土)漠地帯で不毛の地と言ってもよく、耕地はカスピ海沿岸に僅かに存するに過ぎない。人口は約3,000万人で、アリア系に属するイラン人が7割を占めている。公用語はペルシア語であるが、英語、フランス語がかなり通用する。宗教はイスラム教の中のシーア派が国教であるが、その他少数ながらキリスト教、ユダヤ教、ゾロアスター教等もみとめられる。この国は世界第3位の原油産出国で、石油の輸出によって得られる収入で、工業立国、近代化への努力を懸命に続けている。北部カスピ海沿岸地帯は亜熱帯に属し、温暖であるが、中部高原地帯は大陸性気候で寒暖の差が甚だしく、雨量も少ない。南部ペルシア湾岸地方は熱帯で、酷暑と言ってもよく、夏季には50°Cを超える事も稀ではない。

発展途上国の常として、発表される資料は必ずしも正確なものとは言い難いが1971年度のイラン厚生省の発表した死因統計(14の都市での調査をまとめたもの)よりみるに(国際疾病分類による)、循環器疾患(28.3%)で最も多く、次いで呼吸器疾患(18.3%)、感染症及び寄生虫疾患(17.8%)の順で、感染症がかなり上位を占めている。すなわちチフス、パラチフス、赤痢、種々の腸管寄生虫、住血吸虫、ジフテリア、猩紅熱、ポリオ、マラリア、発疹チフス、皮膚リーシュマニア症、フィラリア症等が報告されている。コレラ、痘瘡等は厚生省の報告にはみられないが、現

地での話しでは時々散発的な流行がみられるそうである。首都のテヘラン地区と南部ペルシア湾岸地帯のアワーズ地区の疾患別死亡率を比較するに感染症及び寄生虫疾患は、前者は9.7%であるのに比し、後者は21.3%で、南部の熱帯地方に感染症の発生、死亡が多い。次に医療施設についてであるが、テヘラン地区を始めとする都市地区では、先進国なみの立派な病院があり、フランス、イギリス、アメリカ等で教育をうけた優秀なスタッフで運営されているが、僻地、砂(土)漠地帯等では医療施設の整備は未だしのようである。大学卒業後2-4年の衛生部隊勤務が義務づけられているが、これらの青年医師達の地方住民への医療、保健、衛生活動がこの国の僻地の医療を支えていると言っても良いだろう。オイルダラーにより裕福になったこの国は近代化への道を確実にたどりつつあり、医療施設の整備、衛生環境の改善等に大きな努力を払っている。

### 4 東南アジアをめぐる

武谷 健二 (九大・医・微生物)

昭和48年3月から49年末にかけて、主として医療、医学教育、研究の現状を視察するために、3回にわたって東南アジア諸国を訪問した。

訪問先は南ベトナム、ラオス、タイ、インド、スリランカ、インドネシア、フィリピンの7カ国で、そのうちタイとベトナムとは別の観点から2度訪れた。この訪問旅行を通じて得られた各国の医療、医学教育、研究の現状についての所感をのべ、これらに対するわが国の医学者の協力についての今後の問題点についてふれた。

### 5 フィリピンでの医学生との交流

桑原 敏真, 横山 繁生, 紺田 信  
(長崎大・医・熱帯医学研究会)

中林敏夫教授をリーダーとし、医学部3年の夏休みを利用して、我々はフィリピンで熱帯医学研究会としての活動を行った。ここでは、現地での医学生との交流について、印象に残ったことを述べる。

フィリピンでは公立の医学校が少なく、私立が

圧倒的に多いため、ブルジョア的な学生が多いように思われた。また4年間の大学教育を受けてから、再度、医学を学ぶために女性が多くなって来ている。これは、年月がかかるということで、男性は敬遠するからであると聞いた。そのため1学年120人程度で、男性40人、女性80人といった割合であった。講義は、日本では知識に重点を置いているのに対して、フィリピンでは実習中心主義であり、学生に注射をさせたり、夜勤や手術の助手をさせたりで、学生達もなかなか楽しそうであった。ただ、医者数が足りないため、学生を使うことによって、その不足を補っているのではないかとも思われた。

彼等と一緒に、食事をしたり講義を聴いたりしたときの印象では、自分達が高い地位にあることを自覚し、また医学のあり方に関する目標はアメリカ医学にあり、将来出来れば、アメリカに留学する希望をもっているなどといったことであった。しかし日本にも興味を持っており、マイクロサージュリのことなどを話すと、はじめて聞くことだと言って、機会があれば日本へ是非行ってみたいとも言っていた。また学生の生活というものは、何処でも変りなく、我々と似たようなものであった。短い期間であったが、少しは彼等と心の交流が出来たと思っている。

## 特別講演

### 1 東南アジアのマラリア

中林 敏夫

(長崎大・熱帯医研・疫学)

1974年12月25日、インドネシア、モロタイ島で無事救出された中村さんは、同月31日に発熱し熱帯熱マラリアと診断された(新聞報道による)。モロタイ島の生活環境を知る由もないが、住民地域よりかなり離れた山中のジャングル地帯で殆ど無病で過したこと、熱帯熱マラリアの潜伏期間(7~12日)などからして、同氏が下山し、部落に入って間もなく感染したものと推測される。この事実は、無マラリア地である日本などから、僅々数時間内に熱帯地に到達し、さらに半日もすれば

マラリア地域に入り得る現在の海外旅行事情からみて、熱帯地でのマラリア感染、ひいては輸入マラリアの様相を如実に示す1つのモデルケースとも受けとれた。1973年にWHOはあらゆる種類の国際旅行に対するマラリア感染の危険性を警告したのもこの様な背景からであった。

WHOを中心とするDDT残留噴霧、集団予防、治療対策などの防圧作業は、局地的なマラリア撲滅にかなりの成果をあげた。東南アジア地域のマラリア撲滅地域居住人口は、1972年には約3億5,000万で1960年の約23倍にも達している。しかし一方では、マラリア無対策地域の人口も1960年の約1億に比し1972年には1億7,000万と増加している。これは総人口がこの期間中に約42%も増加したことが理由と思われる。以上の事からみて、東南アジアのマラリア感染者数は決して減少していないと言ってよい。

東南アジアの主マラリア伝搬蚊は約30種にも達し、地域、気候条件などでそれぞれの分布地を持っている。インドシナ半島、フィリピン、ボルネオ、台湾、中国、沖縄などに分布する*A. minimus*は浸淫性マラリアを代表する種類と見られ、インド亜大陸から中国にかけて分布する*A. maculatus*は流行性マラリアを招来する種類と見なされている。その他に、中国、日本、台湾などに見る*A. sinensis*、インドネシアなどに多い*A. sundaicus*などの伝搬蚊がある。

台湾はマラリア防圧を果たした数少ない地域の1つであるが、輸入マラリアの他に、土着性と見なされる例、輸血マラリア例(四日熱)など年間に数十例の発生があり、現在、帰国者の追跡調査、報賞金を出すなどして、マラリア患者検出と伝搬防止に努めている。一方、1963年までは着実に防圧対策に成功したスリランカでは、1967年の台風後*A. culicifacies*の異常大発生により再び1969年には推定200万の患者数を見るまでに逆行した。その後の防圧により1971年は15万と推定されるに至ったが、長年の対策が一瞬にして無に帰した場合の好例であった。マルダイブ及びモーリシャスは防圧を完了したと見なされている。現在、ソロモン群島で防圧の成果が上りつつある。

フィリピンは都会地及びその周辺を除き、マラリア浸淫度は高い。1971年に DDT 使用を中止したためか、同国マラリア局によれば標本陽性率が1972年より1973年が増加して、熱帯熱検出率が約67%と最多を占めていることから今後の対策に苦慮している。我々は1971年より73年にかけて、同国パラワン島のイワヒグ囚人部落において、野外調査における熱帯熱マラリアのクロロキン感受性試験を実施した。その結果、患者へのクロロキン塩基 25mg/kg 投与で多数の RI, RII 再燃例を見出し、この地域にクロロキン耐性熱帯熱マラリアの分布することを確認した [Nakabayashi *et al.*, *Trop. Med.*, 16(1), 1-10, 1974]。

フィリピンの他、東南アジアのクロロキン耐性熱帯熱マラリアの分布は、先にタイ、ベトナム、マレーシアなどで報告されたが、さらにシンガポール、ラオス、カンボジア、ビルマ、インドネシア（スマトラ）、ボルネオ（サバ、カリマンタン）、オーストラリアなどでも認められた。他薬剤（ピリメタミン、プログァニール、キニーネ、メパクリンなど）に対する耐性マラリアについての報告も少なくない。マラリア地域への旅行者、居住者にとって、薬剤耐性問題は、予防、治療対策に深い関係を持つもので、十分な認識と警戒が必要となるであろう。

日本への輸入マラリアの実態は遺憾ながら十分に把握されていない。筆者は年間、少なくとも200人以上はあると推定している。手元にある症例（医科研、海老沢博士；予研、大友博士らによる）から、東南アジアからの輸入マラリア99例について見ると、三日熱が74例と最多で、熱帯熱23例、四日熱2例となり、輸入先はインドネシア、ニューギニア、フィリピン、タイ、マレーシア、スリランカなどとなっている。アフリカからの輸入例では熱帯熱が最多で卵型三日熱が検出されているのとは対比的である。また、最近では明らかに国内での2次感染と思われる症例も報告されていることは注目せねばならない。また、熱帯現地でマラリア感染のため、職務に支障を来たした場合（タイでの牛種改良の援助計画）も見聞しえる。

マラリアは必ずしも致命的な悪疫とは言えない

にしても、今日なお、東南アジアに広く分布する感染症である。マラリアに対する予備知識と十分な対応策を持つならば、たとえ、高浸淫地においても完全に感染あるいは発病を防止しえるものである。熱帯地居住者、および旅行者の激増しつつある現在、マラリアへの関心の高揚を改めて喚起したい。

## 2 中南米の肺吸虫

宮崎 一郎 (福岡大・医・寄生虫)

1967年末までに、米大陸で報告された肺吸虫は、1) *Paragonimus rudis* (Diesing, 1850), 2) *P. westermanni* (Kerbert, 1878) (ウェステルマン肺吸虫), 3) *P. kellicotti* Ward, 1908 (ケリコット肺吸虫) の3種にすぎなかった〔当時、日本ではすでに4種、アジア全体では15種が確認されていた〕。この中、第1のものはブラジルで発見されたが、その特徴がよくわからず、現在では *Species inquirenda* として、さらに詳しい研究が要求されている。第2種はヒトや動物から報告されているが、同定が非常にうたがわしく、私のこれまでの調査でも、本種が米大陸に分布しているとは思われない。第3は米国で発見され、カナダにも分布している独立種で、1例ではあるが、米国から人体寄生の報告もある。本種はパナマでも記録されているが、同定が非常にうたがわしく、私は中南米では、まだ確認していない。人体寄生は今世紀の初頭から報告されていたにもかかわらず、病原虫に関する基礎的な研究は、中南米には、つい最近まで無かったといつてよい。

1963年、私はブラジルで開かれた国際熱帯医学会に出席したのを機会に、同国、メキシコ、および米国の研究機関をまわって標本を再検討してみた。その時、メキシコ市にある熱帯医学研究所で、メキシコ人の肺の切片標本に肺吸虫卵を認めて、深い興味をおぼえ、ついに中南米に手をのばすことになった。そして、5年後にメキシコの Colima から、*P. mexicanus* Miyazaki et Ishii, 1968 (メキシコ肺吸虫) を報告したが、ほとんど同時に、米国の友人によってコロンビアの Cali から、*P. caliensis* Little, 1968 (カリ肺吸虫) が記載されて、

中南米の研究もようやく緒についた。*P. rudis* 発見後 120 年をへて、やっと機が熟したわけである。

つづいて、ペルーの北部 Cajamarca で、トルヒヨ大学との共同研究によって *P. peruvianus* Miyazaki, Ibáñez et Miranda, 1969 (ペルー肺吸虫) をみつけ、さらに同国中央部の Tingo Maria で、リマの公衆衛生研究所との共同研究によって *P. amazonicus* Miyazaki, Grados et Uyema, 1973 (アマゾン肺吸虫) を記載して、わずか数年の間に、中南米の肺吸虫は 1 種から 5 種に増加した。最近、私たちは、さらに別種をみつけたので、近く第 6 種として記載する予定である。その間に、人体症例はコスタリカで 2 例、ペルーで 100 例以上確認されたが、病原虫の種類はまだ確実には証明されていない。しかし、ペルー肺吸虫に、その可能性が最もつよい。

結局、これまでに私が調査した国は、ブラジル、ペルー、コロンビア、パナマ、コスタリカ、およびメキシコであるが、特に力を注いだのはペルーとパナマであった。ペルーでは、まず北部の Cajamarca を中心に調査して多くの患者を確認し、ひどいのは、母と子供 4 人の全員が感染している例もあった。それだけに、感染源になるチリーサワガニも高率にペルー肺吸虫の幼虫をもっており、私自身で鏡検した材料では 70% 近くが陽性であった。しかも、この幼虫はフクロをかぶっていないのに感染力がつよいので、患者の多いのも当然と思われた。ついで中央部の Tingo Maria に研究の中心をうつしたが、幸にも、同地にすむ男の肺から 2 成虫をえることができた。これは、ペルーでの貴重な第 1 例であったが、術前に用いたピチオノールのために虫の同定に必要な生殖器が変化していて、種名をきめることはできなかった。そこで、哺乳動物から成虫を集めることに努力してきた結果、フクロネズミ科の 2 種、ネコ科の 4 種、イタチ科の 1 種から計 27 の虫をえることができた。この中、フクロネズミからの 8 虫には前記の“アマゾン肺吸虫”という名を与えたが、残りにも近く別の種名を提唱する予定である。しかし、前記した人肺からの 2 虫体は、そのどちらにも一致しない。

パナマでは、カニから肺吸虫の幼虫を集めることに主眼をおいた。その結果、3 種の淡水産から多数の幼虫をえ、これらを形態学的に、A, B, C の 3 型に分類することができた。そして、A と B はネコに実験感染をこころみた結果、A はよく感染して成虫になったが、B は 2 年にわたってくりかえしたにも拘らず、不成功におわった。C はたった 1 個体のため、実験不可能、そして、A は幼虫と成虫の特徴から、容易にペルー肺吸虫と同定することができた。B については大分苦勞したが、昨年末コロンビアの模式産地を訪れることによって、ようやく、カリ肺吸虫であるという自信をえることができた。ネコに感染不可能だった事実も、コロンビアでの本虫に関する実験成績とよく一致した。C はその排泄ノウの前端が、腹吸盤の高さまでしかない、という非常に変わった特長を示すので、これがどんな成虫に發育するのか、これからの研究結果が楽しみである。

結局、1963 年に私がメキシコで人肺内の肺吸虫卵に興味をひかれてから約 10 年の間に、中南米の種類は 1 種から、未発表種を含めて、6 種になった。そして医学上重要と思われるペルー肺吸虫をパナマやコスタリカでも確認して、分布の広いことを明らかにした。中南米で最も古くから関心をもたれていたペルーでは、久しく信じられてきた、東洋移民による病原体搬入説をくつがえして、日系市民によるこばれた経験がある。この 10 年の間に、中南米の肺吸虫に興味をもつ人がふえてきたので、今後は彼らによって、多くの問題が解明されてゆくことであろう。ここに付記しておきたいのは、ペルー肺吸虫はメキシコ肺吸虫のシノニムである、という説がコスタリカの一派から出ていることである。今後の興味深い問題であるが、その解決には、まず、メキシコの模式産地 Colima に出かけて、メタセルカリアをくわしく観察することから始めなければならない。私は若い諸兄に期待している。

## シンポジウム

## アルボウイルス、とくにその疫学を中心として

司会 森 良一 (九大・医・微生物)

## 1 日本におけるアルボウイルスの疫学

大谷 明 (予研)

第2次世界大戦末期に日本に一時デング熱患者が大量に発生した事実を除けば、日本におけるアルボウイルスとして長らく注目を浴びてきたのは日本脳炎ウイルスのみであった。しかし、1950年頃からアルボウイルスの生態学、ウイルス学が著しく進展するにつれ、日本脳炎の研究のかたわら、日本にも日本脳炎ウイルス以外にアルボウイルスが存在することが次第に明らかにされてきた。現在までに分類学的地位が明らかにされた日本のアルボウイルスは9種を数える。その大部分はヒト、及び他の動物の疾患の原因とならぬ所謂 orphan virus であり、その日本における生態も不明のまま残されている。

さらに9種のアルボウイルスの殆んどすべてにおいて、南アジアに存在するウイルスと同一か抗原的に近縁関係が証明されているので、日本のこれらのアルボウイルスはその起原を南アジアに帰する考え方が自然である。南アジアはアルボウイルスにとっては生存し易い条件を備えているが、日本はこれに比較すると必ずしもアルボウイルスにとって安住の地とは言えない。この厳しい環境条件の故に今まで日本で分離されたアルボウイルスが日本に常在しているとは限らない。少なくとも日本にはデング熱ウイルスは安定して存在することはできないと考えられる。

Getah ウイルスは日本で分離された唯一の alpha virus であり、その分布も広く、かなり頻繁に分離され、さらに動物感染も安定したパターンを示しているので、日本の常在ウイルスと考えた方がよいかも知れない。主な媒介動物はキンイロヤブカが疑われる。

Flavi virus としては、日本脳炎、デングの外に、Negishi, Apoi, Yokose の3種のウイルスがある。

Apoi は北海道でただ一回分離されたに過ぎないが、北海道のウマ、ウシに抗体がその後も発見されており、現在もお定着している可能性がある。媒介はダニによるのではないかと思わせる理由がある。

Negishi はその生態が分離当初から不可解なウイルスであった。しかし最近ソ連でダニから同ウイルスを分離したと聞いており、日本以外で存在が初めて確認された。例外的な北方系ウイルスかも知れぬ。

Yokose は1971年大分のコウモリから分離したもので、抗原的に日本脳炎ウイルスに近い。Rio bravo virus をSLEウイルスの変異株と考えるように、日本脳炎の変異株と考えるのも面白い。媒介動物を知ることが重要であろう。

Batai virus はBunyamwera群に属するが、大阪で分離されたKurotori virusがこのウイルスと抗原的に近似していると聞いている。蚊媒介性であろうが、その種は不明である。

Akabane virus はSimbu群ウイルスであるが、最近牛に多発する異常産の原因ウイルスに疑せられており、orphan virusでなくなるかも知れぬ。日本の常在の可能性がでてきたといえよう。問題は媒介動物である。日本における最初の分離は蚊からであるが、オーストラリアと同じく日本でもculicoidesが問題となるかも知れない。

## 2 日本脳炎ウイルスの生態

三舟求真人 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)

長崎地方における1964年から1973年に至る調査成績を中心にして流行期及び流行閉期における日本脳炎ウイルス(JEV)の生態について概観した。

流行期におけるJEVの生態について種々の蚊からのウイルス分離、屠殺豚のJEVに対する抗体保有、媒介蚊の密度及び日本脳炎患者のウイルス学的検査を平行して行った結果、まず媒介蚊については10年間の総JEV分離数232株のうち217株(93.5%)はコガタアカイエカから分離されており、この蚊が主要なベクターであることは疑う余地のないこと、しかしこのベクターにおける広範なJEV汚染は長崎地方ではベクター密度の

ピークにほぼ一致して認められ、ピークのあとで広範な汚染がみられる関東、東北地方の状況とは異なっていることが明らかになった。

ブタの JEV 感染開始は毎年ベクターから始めて JEV が分離される時期にほぼ一致して認められ、年によって感染の広がりや速度にやや違いはあっても急速に感染が広がり約 70% から 100% のブタが感染した。ベクターの吸血嗜好性、ベクターからの JEV 分離状況を考えブタが JEV 感染環の一員としてウイルス増殖に重要な役割をしていることを再確認した。

ヒトにおける日本脳炎の流行とベクターからの JEV 分離、ベクター密度、ブタの JEV 感染との関係を総括すると、ベクターから分離されるウイルス株数、その期間の長短あるいはベクターに JEV 汚染が始まる時期とは直接の関係は認められず、ヒト流行のサイズはベクター密度の季節変動と、感受性ブタと既に免疫なブタとの比率に依存している。換言すれば、もしヒト集団における免疫度の変化を考慮に入れなければ、ブタにおける JEV 感染開始時期のベクター密度の大小と密接な関係があることが明らかとなった。

ヒトにおける日本脳炎の流行は 1966 年の大流行をピークに年々減少の傾向にあるが、これは種々の原因によるベクター総数の減少が主な原因と考えられた。

流行閉期における JEV の生態については主としてコガタアカイエカ ♀ 体内での越冬の可能性について論じた。まず、実験的に感染したコガタアカイエカは自然とほぼ同様の環境条件下で越冬可能であること、越冬した蚊は感受性ブタにウイルスを伝播する能力を保持し、感染したブタは次代の新生蚊を感染させるに十分なウイルス血症を起こすことを証明した。

次いでこの可能性を自然界で実証するため、10 年間で約 8 万個体の自然で越冬したコガタアカイエカを捕集し、現在考えられる種々の方法で JEV 分離を試みたが不成功だった。コガタアカイエカ以外の、成虫で越冬するアカイエカ等他の 3 種の蚊についても同様の試みをしたが JEV は分離されなかった。しかし同時に行った捕集越冬蚊の吸

血歴の検査及びコガタアカイエカの越冬生理の実験的研究の結果から、少なくとも長崎地方ではコガタアカイエカの殆んどは吸血することなく冬眠に入ることが明らかとなり、これらの諸事実を考えると長崎地方においてコガタアカイエカ体内で JEV が越冬する可能性は殆んどないことが推測された。

次に、コガタアカイエカの越冬生理が異なる可能性を考え、1973 年から 1975 年にかけて奄美大島で流行閉期、流行期を通じて上記と同様の研究を行った結果、本邦では初めて 2 月初旬に捕集した越冬コガタアカイエカから 4 株のウイルスを分離した。その後は 11 月下旬に至る長期間、緩慢な蚊—ブタ—蚊の感染環が認められたがその後は消失し、翌年は 7 月中旬に至るまでウイルスの活動は認められなかった。これらの事実が何を示唆するか不明であるが、少なくとも奄美大島のような自然環境下では或る条件が揃えばコガタアカイエカ体内でウイルスの越冬が可能なのかも知れない。長崎地方、奄美大島あるいはより南方の沖縄のコガタアカイエカの越冬生理の比較研究が今後の重要な課題である。

### 3 東南アジアのデングとその疫学

堀田 進 (神戸大・医・微生物)

デング (以下 DEN と略記) が東南アジアに広く分布することは古くから知られていたが、その疫学的実態は必ずしも詳細に判明してはいたわけではない。第 2 次世界大戦中に日米両国が DEN その他各種の熱帯病に悩まされ、とくに日本では長崎、神戸などの海港都市で世界疫学史に残るべき DEN の大流行をみたことから、主として両国学者が本病の研究を開始した。これによってみるべき成果も得られたが、しかし戦争終了と共に研究の熱意が消退したことは否定出来なかった。しかるに 1950 年代後半より東南アジア各地に高い致死率を示す悪性の出血熱が多発し、しかもその主要な病因として DEN が挙げられるに及んで再び広く医学者の注目をひくに至った。

我々は 1942 年より DEN の実験的研究に従事してきたが、さらに 1964 年以来インドネシアにおい

て同国の研究者と共同して DEN 並びに関連ウイルス疾患の疫学的調査研究を実施したので、ここにインドネシアでの成績を中心として本病の疫学を論じたいと思う。インドネシアの地理医学的な代表地域 (Lombok 島, 南スマトラ Lampung 州, 西ジャワ Madjalengka 州, および東ジャワ Surabaya 市) を選定し, その在住者の血清について抗 Arbovirus 抗体を測定した。抗原ウイルスとしては A 群 Chikungunya, B 群 DEN 1, 2, 3, 4 型, 日本脳炎, 黄熱 (それぞれ CH, D1, D2, D3, D4, JE, YF と略記) を選び, 主として HI 抗体を測定した。その他に各種動物 (ウシ, ブタ, ヤギ, オランウータンなど) の血清をもしらべ, また必要に応じてウイルス分離や臨床的検査なども試みた。これらはインドネシアにおける Arbovirus に関する最初の系統的調査であった。得られたデータを日本内地のそれと対比して考察すると次の通りである。

(1) インドネシアにおいては上記各種抗体が広汎に分布している。これに比べ日本内地では JE 抗体が実際に検出される唯一のものである。しかしインドネシアにおいても, これら抗体の分布は地域によって有意の差を示すことを知った。言い換えれば, 上記各ウイルスは地域によってかなり異なった分布をするようである。なお, 長崎在住者の血清に感染後四半世紀でも特異的な DEN 抗体が検出された。

(2) CH 抗体がインドネシアで明らかに認められた。これは将来検討に値する。これに反し日本内地の血清には本調査に関する限り CH 抗体陽性例を全く見出さなかった。

(3) 特異的とみなすべき YF 抗体はインドネシアにおいて (また日本内地においても) 検出されなかった。このことは, アジアにかつて YF が発生したことがないという特殊な疫学的事実を改めて裏づけるものである (後述参照)。

(4) インドネシアにおいてウイルス学的に確認された最初の出血熱症例が見出され, それは多分 D2 に関連をもつものと推定された。なお, DEN 性出血熱の病理所見が YF のそれと酷似すること, DEN と YF のウイルス自体の生物学的性状が相

互に近似することなどを考え合わせると, DEN 性出血熱はアジアにおいて黄熱に代わるべき重要疾患であり, 「アジア黄熱」とも称すべき特異なものである。

これらの疫学的知見と関連して DEN ウイルスの特性, 予防ワクチンの可能性, 疫学上意義ある血清学的新術式などについても考察を加えた。

#### 参 考 文 献

本講演に関連するもの:

Kobe University and Indonesian Medical Teams (1967): Kobe J. Med. Sci., 13, 129-241  
Ibid. (1970): Ibid., 16, 119-289

Hotta, S. (1973): International Medical Foundation of Japan, Report Series No. 3, p. 3-20

堀田 進 (1973): 東南アジア研究 (京都大学), 11, 86-106

総括的なもの:

Halstead, S. B. (1966): Bull. Wld Hlth Org., 35, 3-15

Memoranda (1966): Ibid., 35, 17-33

Hammon, W. M. *et al.* (1966): Ibid., 35, 37-103

#### 4 日本脳炎ワクチンの現状

山田 昭

(化血研)

1947年から3年間, 岡山県下学童を対象とした野外試験の結果, ワクチンの有効性が確認され, 1954年には人体用日本脳炎ワクチンの基準が制定された。その後, 1965年台湾, 1969年韓国において大規模な接種が行われ, その有効率はそれぞれ81%及び99%と計算された。現在の日本脳炎ワクチンは感染マウス脳を出発材料とし, アルコール, プロタミン処理又はプロタミン処理後超遠心して製造した精製ワクチンである。併しマウス脳を原材料としているので, 当初アレルギー性脳炎が懸念され, ワクチン改良の面は主としてこの副作用の可能性の除去を目標に進められ, 1954年より計5回の基準改正を経て, 格段に精製されたワクチンとなっている (1ml 当たり蛋白性窒素は 0.01mg

以下)。又更に強力な免疫を付与する為、1973年以來ワクチンの力価を従来の2倍に高めている。

ワクチン製造株は生物学的製剤基準により「中山予研株又は別に定める株」と指定されている。1935年に分離された中山株はその後分離されたJagar 01株（1959年）及び最近の分離株とやや抗原構造の異なることが全国的調査で判明した。併し中山予研株以外の株では製造上に難点がある事と、中山予研株の免疫原性が極めて優れ、又安定性がよい事など、少々の抗原構造のズレは充分カバーが可能であり、現在中山予研株が製造株となっている。1973年、力価検定法がプラーク減少法による中和抗体測定法に変更され、その精度が高くなると共に、中和用ウイルスとして製造株以外の流行株も使用可能となり、現在検討されている。

ワクチンの温度管理は極めて重要で10 C以下に凍結をさせて保存する様規定されている。凍結

により力価の激減を来たすので注意する必要がある。力価保存剤としてゼラチン、アミノ酸が、安定剤としてTween 80が用いられている。

日本脳炎流行地は勿論、非常在地においても先ず、基礎免疫（2回の初回免疫と翌年1回の追加免疫）と、その後地域により1-3年に1回の追加免疫を行う。特に高年齢層は罹患率が高く、抗体応答も悪いので、3回の初回免疫と更に追加免疫を毎年繰り返す必要があろう。本ワクチンは現在まで20年間、極めて多数の人に接種されたが、局所反応及び全身反応も極めて少なく、又、アレルギー性脳炎など殆んどないことが確認されているが、今後更に純度を高め、感染防御抗原のみを分離精製したワクチン等を考慮する必要がある。又、神経組織以外の組織培養系を応用したワクチンの開発と熱帯用の乾燥ワクチンの開発も積極的に進める必要があろう。

# JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

---

Vol. 4 No. 2

September, 1976

---

## CONTENTS

### Review

- FUJITA, N.  
Virologic Considerations on Anti-Dengue Vaccine (in Japanese)..... 99-114

### Original article

- WONDE, T., TADA, I. AND IWAMOTO, I.  
Prevalence of Intestinal Parasites and Schistosomiasis in South-west Ethiopia (in Japanese)  
..... 115-122
- ISHII, A.  
An Intensive Survey of Intestinal Parasite Infections at Uken Village on Amami Oshima  
Island, Southern Japan ..... 123-128
- AOKI, Y., NAKAJIMA, Y. AND KATAMINE, D.  
Studies on Malayan Filariasis in Che-ju Is., Korea  
3 Microfilarial Surface Architecture of *Brugia malayi* (Che-ju strain) in Comparison  
with that of *Brugia pahangi*..... 129-137
- NISHIMOTO, K. AND MORIYAMA, T.  
A Case of Cerebral Chromomycosis (in Japanese) ..... 139-146

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

c/o Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University  
12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan