

エキノкокクス感染実験施設で遂行されたプロジェクトと これからの展望

Past and Future Experiments at the Special Facility for *Echinococcus multilocularis*
at Hokkaido Institute of Public Health

八木 欣平

Kinpei YAGI

Human alveolar echinococcosis, caused by the metacestode stage of the tapeworm *Echinococcus multilocularis*, is considered to be one of the most pathogenic zoonotic diseases in Hokkaido. The Hokkaido local government instituted control measures for this disease in 1936, when the first patient in Hokkaido was diagnosed. However, the detection of swine echinococcosis in slaughter houses during the years 1983-1990 revealed the distribution of these parasites in animals had expanded across the entire area of Hokkaido. In 1986, in order to clarify the biological characteristics of the parasite and to make effective control measures, the government constructed a special experimental facility for echinococcosis in Hokkaido institute of public health, paving the way for appropriate control programs. In this paper I review the experimental studies performed to date in this facility and examine the potential for future work.

Key words : *Echinococcus multilocularis* (多包条虫) ; experimental infection (感染実験) ; special facility (特殊施設)

はじめに

エキノкокクス属条虫は、世界的に流行が見られる単包条虫 *Echinococcus granulosus* のほか複数の種で構成されているが、北海道におけるエキノкокクス症 (多包虫症) は、多包条虫 *Echinococcus multilocularis* の幼虫 (多包虫) による疾病である。北海道の最初の多包虫症患者は、1936年に診断された北海道礼文島に居住歴のある28歳の女性であった。その後、礼文島出身あるいは在住者の患者が次々と報告され、感染が島内で成立したことが推測された¹⁾。北海道衛生部は最初の患者発生から本症に対応し、当所職員も現地駐在員として派遣された。礼文島における動物間の流行は、島内すべての終宿主動物を殺処分することで収束がはかられた。一方、1965年に礼文島とは関連のない多包虫症患者が北海道東部で報告された。周辺の動物調査により、この地域における多包条虫の流行が確認された²⁾。その後、1983年に、と畜検査でブタの多包虫症が発見された³⁾。このブタでの検出をきっかけに、当時北海道東部の一部に限局されていると考えられていた多包条虫の動物間流行が、全道に拡大していることが確認された。当所は、北海道が行う本症の対策に対し、診断技術の開発や動物間流行の解析など、学術的な視点からの支援を行っていたが、この流行地域の拡大に対応するために、あらた

な対策の検討が必要となった。特に感染予防のための衛生教育には、多包条虫の基礎的な生物学的性状を明らかにすることが必要であった。この目的の達成のため、1986年に北海道は、当所に様々な感染症を扱うP3施設を建設するのに合わせ、エキノкокクスの感染実験を行うための施設 (エキノкокクス感染実験施設) を設置した。当時、国内外において、エキノкокクスの実験を目的としたP3レベルの施設は存在しなかった。我々は、限られた情報を基に、安全を確保し病原体の流出を防ぎながら実験が遂行できる施設を設計した⁴⁾。

新しい施設の完成により、当所のエキノкокクス症の調査・研究は、ヒトの感染診断法開発、野外での流行状況の把握と対策法の検討及びこの施設を用いた感染実験による生物学的性状の解明の3つのグループに再構成された。それぞれのグループが互いに密接に関わりながらエキノкокクス研究は遂行された。本稿では、これらの研究のうち、エキノкокクス感染実験施設を用いて遂行されたプロジェクトとその成果について概説する。また現在継続中の課題と、これからのエキノкокクス研究の展望を述べる。

多包条虫の生物学的性状に関する実験的解析

多包条虫の基本的な生物学的性状、例えば、成虫の宿主 (終宿主) がイヌ、キツネなどの食肉目の動物で、幼虫の

宿主（中間宿主）が齧歯類であることなどは、1980年代に既に明らかにされていた。しかし、終宿主動物の感受性や、成虫のプレパテントピリオド（感染後最初に虫卵が排出されるまでの期間）、虫卵排出の持続期間、虫卵の野外での生存期間や中間宿主動物の感受性と原頭節の形成時期など、本虫の感染予防のための衛生教育や、コントロールプログラム作成のために必要な情報が欠落していた。

我々は、エキノコックスの実験に先立って、実験室で維持していた猫条虫 *Taenia taeniaeformis* を用いて、虫卵の取り扱いや虫卵の回収方法を検討した⁵⁾。次に、この施設において継代中のアラスカ株及び網走株の多包条虫を用いて予備的な感染実験を行い、長期間二次包虫で継代維持されていた多包虫を、虫卵感染によって終宿主動物のイヌと中間宿主動物のコトナラット *Sigmodon hispidus* で実験室内で継代することに成功した⁶⁾。

エゾヤチネズミ *Myodes rufocanus bedfordiae* は北海道で多包条虫の最も重要な中間宿主と考えられていたため⁷⁾、野外で捕獲したエゾヤチネズミを繁殖させ、北海道東部で分離し継代していた北海道株多包条虫虫卵を感染させることで多包虫の発育を観察した^{8,9)}。エゾヤチネズミ以外にも、コトナラットやスナネズミ *Meriones unguiculatus* など、動物実験を行う上で重要な動物や、アカネズミ *Apodemus speciosus* など、野外での維持に関わると考えられた動物における感受性とエキノコックスの発育についても検討を加えた¹⁰⁻¹²⁾。虫卵の失活条件を明らかにすることは、この寄生虫がどのように維持されているかを明らかにするだけでなく、感染リスクを軽減するためにも重要な課題であった¹³⁻¹⁶⁾。実験感染を行ったイヌから排出される新鮮な虫卵を用いた実験により、多包条虫虫卵は、低温、高湿度では長期間感染性を維持するのに対し、高温と乾燥状況では速やかに失活することが確認された。

イヌやキツネ、そしてネコなどの終宿主動物への感染実験は、この寄生虫の流行維持のメカニズムを知る上で重要な情報を提供した。イヌやキツネへの北海道株多包条虫の実験感染では成虫は正常に発育したが、ネコへの感染と発育は抑制されていた¹⁷⁾。イヌやキツネへの感染において、プレパテントピリオドが26~30日と明らかにしたことは、その後のイヌやキツネに対する駆虫薬投与の間隔を決定するために重要な知見であった¹⁸⁾。さらに我々は、イヌやキツネにおいて成虫が2~5カ月以内に排除されること、再感染に対する感染抑制があることを観察した^{19,20)}。これらの現象は、終宿主動物の感染時期を推定するために重要な情報であるとともに、終宿主動物のワクチン開発の可能性を示すものであった。我々は、感染実験で得られたエキノコックスの生物学的性状を1995年に札幌で開催された国際シンポジウムで報告した²¹⁾。それらの詳しい情報については当所の創立50周年記念学術誌に記載、英文誌にも紹介した^{22,23)}。

終宿主動物の糞便内抗原及び遺伝子を用いた検査法の開発

テニア科条虫の虫卵は形態的な鑑別が困難であることから、テニア科に属するエキノコックスが感染した終宿主動物の診断法の開発は、予防対策を策定する上で大きな課題であった。北海道大学獣医学部のグループは糞便内への特異抗原の排出に着目し、終宿主動物感染診断法の開発に成功した^{24,25)}。この糞便内抗原検出法によって検出されるエキノコックスに特異的な抗原は、虫卵を失活させるような加熱を行っても安定的に検出されることなどから、本法が野外のキツネ感染状況の把握に使えることが確認された^{26,27)}。一方、フランスのグループはヨーロッパで分離された多包条虫の遺伝子を解析し²⁸⁾、多包条虫に特異的な配列を増幅するPCR法を確立、野生のキツネの糞便に適用した²⁹⁾。それまで当所では蠕虫類を遺伝子で同定する技術を確認していなかったため、当時生活科学部遺伝子工学科大山徹科長の協力を得てフランスグループの追試を行い、北海道の多包条虫診断でもこのPCR法が有効であることを明らかにした³⁰⁻³³⁾。この遺伝子同定技術は、多包条虫のみならず単包条虫の同定手段としても応用された³⁴⁻³⁹⁾。そして、北海道の感染動物の診断^{40,41)}や、クリプトスポリジウムなどの原虫やアニサキス、裂頭条虫などの蠕虫類、そして哺乳動物の同定など医動物分野にも適用された⁴²⁻⁶¹⁾。また、国際協力事業団と共同で実施された研修や派遣事業で、海外の技術者、研究者たちにも技術移転がなされた⁶²⁻⁶⁵⁾。

マウスの感受性に関する研究

北海道のキツネの個体数は、数万~10数万頭で推移していると考えられる。その約40%がこの寄生虫に感染しているにもかかわらず、年間の新規患者が20名前後に抑えられているのは、エキノコックスに関する情報や知識の普及による衛生教育が有効に機能しているためと考えられる一方、多包条虫の感染が、ヒトには容易に成立しない可能性も予測される⁶⁶⁾。山下は、中間宿主動物の種により感受性が異なることを紹介したが⁶⁷⁾、我々も前述のように新鮮な虫卵を経口感染させ、肝臓での病巣の形成（定着）を観察することで各種中間宿主動物の感受性の違いを確認した^{10-12,14)}。さらに山下は、マウスへの感染実験から系統間の感受性の違いについても概説した⁶⁷⁾。我々は近交系マウス感受性の差の詳細を明らかにするため、複数の系統マウスへ虫卵感染を行った。感受性は、定着、シスト重量で表される発育及び原頭節の産生能力で評価した。その結果、系統により感受性に違いがあることを確認した⁶⁸⁻⁷⁰⁾。特にDBA/2マウスは高感受性であり、虫卵感染による多包条虫の継代にコトナラットの代替動物として有用であることも明らかにした^{71,72)}。これらの結果が感受性遺伝子の存在を示唆することから、その特定は、ヒトを含む中間宿主動物の感受性を理解する上で魅力的な課題となった。そこ

で北海道大学大学院獣医学研究科の実験動物学教室の協力を得て、感受性系統である DBA/2 マウスと抵抗性系統である C57BL/6 マウスを用い、量的形質遺伝子座 Quantitative trait locus (QTL) 解析を行った。その結果、第 6 染色体上に定着に関わる遺伝子が存在すること、また第 1 染色体上に原頭節の形成に関わる遺伝子が存在することが予測された⁷³⁾。この実験結果は、多包虫の定着と発育に宿主側の特定の遺伝子が関与していることを示し、ヒトの感受性も特定の遺伝子が関与する可能性を示唆した。現在、多包虫感染初期感受性及び抵抗性マウスの遺伝子発現の解析⁷⁴⁾とともに、コンジェニックマウスを作製し、遺伝子の特定を進めている。

中間宿主及び終宿主動物に対するワクチン開発

多包条虫が含まれるテニア科条虫の中間宿主動物に対するワクチンの研究と開発は、ニュージーランドとオーストラリアのグループによって進められていた^{75,76)}。筆者はこのワクチン開発の中心で、単包虫症ワクチンの研究実績のあるメルボルン大学の M. Lightowlers 教授の研究室で、多包虫症感染に対するワクチン効果のあるタンパク質に関する研究を行う機会を得た⁷⁷⁾。半年間の研修後、この経験を踏まえて、当所の遺伝子工学科と北海道大学獣医学部の協力を得て、多包条虫の成虫から cDNA ライブラリーを構築し、ワクチンや診断に有用なタンパク質を探索するプロジェクトを立案した (エキノコックス成虫 cDNA ライブラリーを基盤とした感染イヌ対策法の検討 (文部科学研究費 (以下、文部科研) 基盤 C, 2006-2008 年, 代表八木欣平))。その結果、幼若成虫から宿主に対し抗体産生を誘導する新規タンパク質 EMY162 をコードしている遺伝子 emY162 を同定した⁷⁸⁾。EMY162 は終宿主動物の抗体を誘導するのみならず、中間宿主動物の虫卵感染を抑制する抗体を誘導するものであった⁷⁹⁾。この新規タンパク質は、その有用性が評価され、北海道大学と共同で特許を取得した (特許番号第 5055522 号)。さらに、北海道大学獣医学部を中心とした研究課題 (多包条虫の網羅的 cDNA 解析と寄生虫の増殖・分化の分子基盤とワクチン開発 (文部科研基盤 B, 2008-2010 年, 分担: 八木欣平)) に参画し、住血吸虫感染に対するワクチン効果がある膜貫通タンパク質であるテトラスパニンファミリー⁸⁰⁾に着目して、多包条虫に関する解析を行った。マウスの感染実験により、このタンパク質も感染を防御する抗体を誘導することを示した^{81,82)}。また、本タンパク質の免疫方法やフィブロネクチン結合ペプチドのアジュバント効果について検討を行った⁸³⁻⁸⁵⁾。一方、終宿主ワクチンの研究についても大きな進展があった。前述のように我々はイヌやキツネへの感染実験において、比較的早期に虫体が脱落する (排除される) ことを観察しており^{21,22)}、終宿主動物に成虫の排除機能が存在し、それを誘導するワクチンの可能性を予測した。イヌはヒトと密接な関係があるだけでなく、本州への流行拡大を担うことが懸念されることから、イヌのコントロー

ル方法 (診断, 治療, ワクチン) の開発は重要な課題であった⁸⁶⁾。イヌの感染実験は、動物が高価であり、施設の飼育能力から一度に実験できる動物の数が限られているため、十分なサンプル数で精度の高い実験を行うことが困難である。また、飼育中に虫卵を排出することから感染リスクが高い。しかしながら、我々はあえてこの難題に対しプロジェクトを立案し、イヌのコントロール方法の開発の研究を進めた (エキノコックス特殊感染実験施設を利用した媒介動物をターゲットとした抗エキノコックスワクチン開発のための包括的研究 (文部科研基盤 C, 2011-2013 年, 代表: 八木欣平), 粘膜免疫法を基盤としたエキノコックス終宿主経口ワクチンの開発 (文部科研若手研究 B, 2011-2012 年, 代表: 孝口裕一), 実用化に向けたエキノコックス終宿主粘膜免ワクチンの改良と再感染防御機能解析 (文部科研基盤研究 C, 2013-2015 年, 代表: 孝口裕一))。これらの研究の結果はエキノコックス感染予防のためのイヌ対策を進める上で、有益なものであった。実験感染したイヌの血清中に、多包条虫のタンパク質に対する抗体を二次元電気泳動により検出するとともに、診断に有効な糖タンパク質を見出した⁸⁷⁻⁸⁹⁾。また、多包条虫に感染したイヌが再感染を抑制することを実験的に証明し⁹⁰⁾、その抑制機能が少なくとも半年以上の期間維持されることを明らかにした⁹¹⁾。これらの結果は、終宿主動物のワクチン開発の可能性を強く示していた。

治療薬の開発

多包虫症は虫体を完全に死滅させるような有効な治療薬がなく、根治のためには、病巣の外科的な摘出が必要とされる⁹²⁾。アルベンダゾールは、外科的治療ができない患者に対して長期間投与されるが、肝毒性や白血球減少などの副作用が報告されている⁹³⁾。近年、多包条虫の遺伝子解析が進み、これらの情報を基に幼虫を死滅させる薬剤の開発が試みられている⁹⁴⁾。ミトコンドリア呼吸鎖を司る酵素複合体を阻害する薬剤の探索は、本症の本質的なリスク軽減に寄与するかもしれない^{95,96)}。多包虫症の薬剤の開発には虫卵の感染実験による評価が必須であり、*in vivo* の実験施設が必要となるが⁹⁴⁾、当所の施設はそれを可能にする。我々は宮崎大学、東京大学と共同で、中間宿主動物の多包虫症治療薬の開発研究 (中国青海省におけるエキノコックス症疫学調査と人と家畜の駆虫薬開発 (文部科研基盤 B, 2014-2016, 分担: 八木欣平)) を遂行中で、現在当所の施設でその実験的検証を行っている⁹⁷⁾。多包虫症の治療薬の開発は、北海道の多包虫症のみならず世界に広がる単包虫症や、その他のエキノコックス症治療薬の開発にもつながり、開発途上国を含む多くの国のエキノコックス症対策に貢献すると考えている。

これからの展望

多包条虫はキツネと野ネズミとの間でその生活環が維持されている、いわゆる動物の寄生虫である。この寄生虫は

これまで“ヒトに寄生する恐ろしい病原体”というヒトの視点からとらえられてきたが、エキノコックスの視点に立った研究が充分になされてきたとはいえない。エキノコックスの視点に立てば、ヒトへの感染は何のメリットもない偶発的なものに過ぎない。動物の流行状況に比して患者の発生数の少なさは、この寄生虫のヒトへの感染が、本来回避されるべきものであることを示しているとも考えられる。しかしながら、ヒトへの感染は、その病原性から大きな驚異と受け止められている。本来外来種ともいえるこの寄生虫を北海道の環境から排除してしまうことは魅力的ではあるが、それが困難な現状では、治療薬の開発とヒトの感受性の研究が重要な課題と考えられる。治療薬の開発のためには、地道な実験的検討が必要である。前述のように、ミトコンドリア呼吸鎖を司る酵素複合体を阻害する薬剤について、我々は良好な結果を得ており、この領域のさらなる展開が期待されている。ヒトの感受性を明らかにするためには、マウスを用いた実験がヒントとなる。特に感染初期の防御メカニズムに関する研究は、ヒトの感染成立の要因を探る上で重要な鍵を握るであろう。鳥取大学との共同研究（エキノコックス感染初期（虫卵から多胞化嚢胞）における遺伝子発現の推移（文部科研基盤C, 2013-2015, 分担：八木欣平））により、感染初期の虫卵や六鉤幼虫の遺伝子発現の基礎的な情報が提供された⁹⁸⁾。この情報を足がかりに、マウスやヒトの感染防御機構を明らかにできると考えている。また、ここに紹介した終宿主動物ワクチンや感受性遺伝子の解析などの課題も現在継続中である。これらの研究は、エキノコックスのみならず蠕虫類の感染メカニズムを明らかにする上で、これからの展開が期待される。

おわりに

1985年にエキノコックス感染実験施設の設計を依頼された時、長年、エキノコックスの研究に携わっていた研究者に施設の構造について意見を伺った。その時、“そんな危ないものを作るのですか？”と逆に問われたことを鮮明に記憶している。1954年、エキノコックスの知識が限られていた時代に、エキノコックスの調査のために礼文島に単身駐在した服部哇作元衛生動物科長の決意とは比較すべくもないが、リスクが明確でない寄生虫と向き合うことを納得するには、少し時間が必要であった。実験を始めて多包条虫に関して多くのことが明らかになり、ヒトへの感染がヒトと寄生虫の双方にメリットのない不合理な感染であることを理解したが、それはヒトへの感染が成立しないことを意味しない。

多包条虫は、現在本州への拡がり懸念されており、実際にその兆候がある^{99,100)}。北海道には、ここで紹介した実験的な研究のみならず、エキノコックス症に対する研究と施策の情報・経験が蓄積されている。北海道の本症に対する行政の取り組みは世界的にも先進的なものである。国内のみならず国外に対しても、その取り組みの公衆衛生上

果たしている役割の重要性は、強調されるべきものと考えている。

当所のエキノコックス研究は、研究予算を含め施設の整備改修など、北海道保健福祉部から多くの支援を頂いて進められてきた。ここに感謝の意を表したい。所内外の様々な支援のおかげで、今日まで安全に研究を推進することができた。また、大学の研究者や所内他部の研究職員など、多くの研究者の参加を得ることができた。これらの研究者と共に行ったエキノコックスの実体解明の研究は、衛生行政への貢献を確信する作業であるとともに、知的好奇心を十分に満たす作業でもあった。研究協力者各位に改めて感謝したい。

2007年以降、文部科研費の申請が可能になり、外部資金を獲得できた。このことは、それ以降の研究費獲得の流れを作る上で重要であった。また上記資金以外にも一般試験研究や重点研究などの道の調査研究事業予算により研究は遂行された。さらに、2012年より厚生労働科学研究費を得ることができ、現在は日本医療研究開発機構科学研究費として、その研究費の一部がイヌ対策の研究のために用いられている（動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究（厚生労働科学研究費, 2012-2014, 分担：八木欣平）、動物由来感染症のリスク分析に関する研究（日本医療研究開発機構（AMED）科学研究費, 2015-2017年, 分担：八木欣平））。各研究費に対してその結果を報告するために投稿した論文への厳しい査読コメントは、我々の研究が国際的にも十分に認知されるレベルに達していることを感じさせてくれた。外部資金を獲得できる制度の導入に尽力いただいた関係者に感謝したい。

最後になりますが、二年越しのこの拙文の投稿を許可し、筆者の遅筆を待ってくださった当所所報編集委員会の皆様

文 献

- 1) 熊谷 満：初期段階におけるヒト多包虫症とその診断などについて。北海道のエキノコックス（北海道立衛生研究所編）、北海道立衛生研究所、札幌、1999、pp.7-13
- 2) 服部哇作：初期段階における医動物学的対策。北海道のエキノコックス（北海道立衛生研究所編）、北海道立衛生研究所、札幌、1999、pp.1-6
- 3) Sakui M, Ishige M, Fukumoto S, Ueda A : Spontaneous *Echinococcus multilocularis* infection in swine in north-eastern Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, 33, 291-296 (1984)
- 4) 佐藤七七朗：エキノコックスに係わる研究施設について。北海道のエキノコックス（北海道立衛生研究所編）、北海道立衛生研究所、札幌、1999、pp.93-98
- 5) 伊東拓也, 八木欣平, 石下真通：蔗糖浮遊法の多包条虫虫卵への適用—猫条虫卵を用いての回収率—。道衛研所報, 39, 79-80 (1989)
- 6) 八木欣平, 伊東拓也, 石下真通, 高橋健一, 佐藤七七朗：エキノコックス実験区域における予備的多包条虫感染実験。道衛研所報, 38, 55-59 (1988)
- 7) 八木欣平, 高橋健一, 服部哇作, 石下真通：北海道産小ほ乳類の肝寄生性蠕虫について。道衛研所報, 36, 30-

- 42 (1986)
- 8) 八木欣平, 伊東拓也, 石下真通: エゾヤチネズミにおける多包条虫の発育についての検討. 道衛研所報, **39**, 10-12 (1989)
 - 9) 八木欣平, 伊東拓也, 石下真通: エゾヤチネズミにおける多包条虫の発育についての検討II. 日本寄生虫学会誌, **40**, 108 増補版 (1991)
 - 10) 八木欣平, 伊東拓也, 石下真通, 川瀬史郎: コトンラットにおける多包条虫の発育についての検討. 道衛研所報, **40**, 9-12 (1990)
 - 11) 八木欣平, 伊東拓也, 石下真通: スナネズミに対する多包条虫の虫卵感染実験について. 第38回日本寄生虫学会北日本支部大会講演要旨集, 27 (1991)
 - 12) 八木欣平, 伊東拓也, 石下真通, 高橋健一: アカネズミに対する多包条虫の虫卵感染実験について. 第111回日本獣医学会講演要旨集, 121 (1991)
 - 13) 石下真通, 伊東拓也, 八木欣平: 多包条虫の生物学的性状—虫卵の寿命とその温度条件—. 日本寄生虫学会誌, **40**, 129 増補版 (1991)
 - 14) 石下真通, 伊東拓也, 八木欣平: 多包条虫卵の寿命とその温度条件. 道衛研所報, **43**, 49-51 (1993)
 - 15) 八木欣平, 伊東拓也: 多包条虫卵の感染性に及ぼす低温および乾燥の影響. 道衛研所報, **49**, 167-168 (1999)
 - 16) 八木欣平, 伊東拓也: 室温で一定湿度に保存したイヌ糞便中の多包条虫虫卵の感染性について. 道衛研所報, **53**, 96-97 (1999)
 - 17) 八木欣平, 伊東拓也, 高橋健一, 木村浩男, 野中成晃, 森嶋康之, 奥祐三郎, 神谷正男: 北海道産多包条虫のネコへの感染実験. 第67回日本寄生虫学会講演要旨集, 75 (1998)
 - 18) 高橋健一, 浦口宏二, Romig T, 畠山英樹, 田村正秀: キツネ用駆虫薬入りベイトを用いたエキノコックス症感染源対策法の検討. 道衛研所報, **52**, 61-63 (2002)
 - 19) 八木欣平, 伊東拓也: ギンギツネに対する多包条虫感染実験について. 第117回日本獣医学会講演要旨集, 132 (1994)
 - 20) 伊東拓也, 八木欣平: キツネを用いた多包条虫感染実験について. 第41回日本寄生虫学会北日本支部大会講演要旨集, 12 (1994)
 - 21) Yagi K, Ito T, Ishige M: A survival strategy of *Echinococcus multilocularis* presumed by experimental studies. In Alveolar Echinococcosis, Strategy for Eradication of Alveolar Echinococcosis of the Liver (eds. Uchino J, Sato N), Fujishoin, Sapporo, 1996, pp 97-99
 - 22) 八木欣平, 伊東拓也: 感染実験による多包条虫の生物学的性状の解析. 北海道のエキノコックス (北海道立衛生研究所編), 北海道立衛生研究所, 札幌, 1999, pp.51-63
 - 23) Matsumoto J, Yagi K: Experimental studies on *Echinococcus multilocularis* in Japan, focusing on biohazardous stages of the parasite. Exp. Parasitol., **119**, 534-541 (2008)
 - 24) Sakashita M, Sakai H, Kohno H, Ooi HK, Oku Y, Yagi K, Ito M, Kamiya M: Detection of coproantigen in experimentally infected dogs using murine monoclonal antibody against adult worms. Jpn. J. Parasitol., **44**(5), 413-420 (1995)
 - 25) Nonaka N, Iida M, Yagi K, Ito T, Ooi HK, Oku Y, Kamiya M: Time course of coproantigen excretion in *Echinococcus multilocularis* infections in foxes and an alternative definitive host, golden hamsters. Int. J. Parasitol., **26**(11), 1271-1278 (1996)
 - 26) Sakai H, Nonaka N, Yagi K, Oku Y, Kamiya M: Coproantigen detection in a routine fox survey of *Echinococcus multilocularis* infection in Hokkaido. Parasitol. Int., **47**(1), 47-51 (1998)
 - 27) Sakai H, Nonaka N, Yagi K, Oku Y, Kamiya M: Coproantigen detection in a survey of *Echinococcus multilocularis* infection among red foxes, *Vulpes vulpes schrencki*, in Hokkaido, Japan. J. Vet. Med. Sci., **60**(5), 639-641 (1998)
 - 28) Bretagne S, Robert B, Vidaud D, Goossens M, Houin R: Structure of the *Echinococcus multilocularis* U1 snRNA gene repeat. Mol. Biochem. Parasitol., **46**(2), 285-292 (1991)
 - 29) Bretagne S, Guillou JP, Morand M, Houin R: Detection of the eggs of *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863, in the feces of the fox (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) by the polymerase chain reaction. Rev. Sci. Tech., **11**(4), 1051-1056 (1992)
 - 30) 八木欣平, 大山 徹: 根室分離株多包条虫からの種特異的遺伝子 (U1 snRNA gene) のPCR法を用いた検出. 道衛研所報, **44**, 55-58 (1994)
 - 31) 大山 徹, 八木欣平: エキノコックスの遺伝子診断. 北海道のエキノコックス (北海道立衛生研究所編), 北海道立衛生研究所, 札幌, 1999, pp.73-82
 - 32) 八木欣平, 大山 徹, 岡本宗裕: 終宿主動物 (イヌ, キツネ等) の多包条虫感染の診断のための遺伝子診断法 (PCR) の検討. 第3回分子寄生虫ワークショップ講演要旨集, 13-14 (1993)
 - 33) Yagi K, Ohyama T, Okamoto M, Kurosawa T, Kamiya M: The application of PCR for the identification of *Echinococcus multilocularis* eggs in Hokkaido. In Alveolar Echinococcosis, Strategy for Eradication of Alveolar Echinococcosis of the Liver (eds. Uchino J, Sato N), Fujishoin, Sapporo, 1996, pp.165-170
 - 34) 八木欣平, 岡本宗裕, 奥祐三郎, 大山 徹: 多包条虫並びにマンソン住血吸虫のU1 snRNA 遺伝子配列から設計されたPCRプライマー (TK1/TK2) の有用性の検討. 道衛研所報, **46**, 61-62 (1996)
 - 35) 八木欣平, 岡本宗裕, 奥祐三郎, 神谷正男, 大山 徹: エキノコックス終宿主診断のための虫卵からの種特異的遺伝子の検出. 第123回日本獣医学会講演要旨集, 124 (1997)
 - 36) 八木欣平, 大山 徹, 岡本宗裕, 奥祐三郎: PCR法を用いた単包条虫 *Echinococcus granulosus* 感染終宿主診断法の開発. 第5回分子寄生虫学ワークショップ講演要旨集, 17 (1996)
 - 37) 八木欣平, 岡本宗裕, 奥祐三郎, 神谷正男, 大山 徹: ウルグアイ産単包条虫のU1 snRNA geneの構造の解析. 第43回日本寄生虫学会北日本支部大会講演要旨集, 29 (1996)
 - 38) 八木欣平, 岡本宗裕, 奥祐三郎, 神谷正男, 大山 徹: 単包条虫のU1 snRNA geneの構造と種特異的遺伝子増幅プライマーの設計. 第66回日本寄生虫学会講演要旨集, 119 (1997)
 - 39) 八木欣平, 大山 徹, 岡本宗裕, 奥祐三郎, 神谷正男, 木村浩男: 多包条虫および近縁のテニア科条虫のミトコンドリア12S rRNA 遺伝子の部分配列の決定とPCR-RFLPによる虫種同定の検討. 道衛研所報, **49**, 163-166 (1999)
 - 40) Kondo H, Wada Y, Bando G, Kosuge M, Yagi K, Oku Y: Alveolar hydatidosis in a gorilla and a ring-tailed lemur in Japan. J. Vet. Med. Sci., **58**(5), 447-449 (1996)
 - 41) Yamano K, Kouguchi H, Uruguchi K, Mukai T, Shibata C, Yamamoto H, Takaesu N, Ito M, Makino Y,

- Takiguchi M, Yagi K : First detection of *Echinococcus multilocularis* infection in two species of nonhuman primates raised in a zoo : a fatal case in *Cercopithecus diana* and a strongly suspected case of spontaneous recovery in *Macaca nigra*. Parasitol. Int., 63(4), 621-626 (2014)
- 42) 八木欣平, 大山 徹, 高橋秀史, 石倉 肇 : 北海道におけるアニサキス症の原因寄生虫種同定のための PCR-RFLP 法の検討. 第 6 回分子寄生虫学ワークショップ講演要旨集, 16 (1997)
- 43) Yagi K, Ohyama T, Takahashi S, Isikura H : PCR-RFLP for the identification of anisakid nematodes removed from human patients. Abstract of IXth International congress of Parasitology, 27 (1998)
- 44) 八木欣平, 浅川満彦, 大山 徹, 岡本宗裕 : 北海道のアライグマから検出された蛔虫の 5.8 S rDNA および ITS-2 rDNA の塩基配列の決定による寄生虫種の同定. 道衛研所報, 49, 159-162 (1999)
- 45) 八木欣平, 浦口宏二, 高橋健一, 宮西浩嗣 : 遺伝子による寄生蠕虫の同定の試み—ヒトから摘出された無鉤条虫の同定—. 道衛研所報, 51, 68-71 (2001)
- 46) 八木欣平, 浦口宏二, 澤田幸治 : 哺乳動物組織の種同定における遺伝子技術適用の試み. 道衛研所報, 52, 64-67 (2002)
- 47) 八木欣平, 浦口宏二, 高橋健一, 澤田幸治, 宮西浩嗣 : ヒトから排出されたテニア科条虫片節の遺伝子を用いた種の同定方法の検討. 日本臨床寄生虫学会誌, 13(1), 110-113 (2002)
- 48) 八木欣平, 伊東拓也, 山野公明, 古屋宏二 : 2002 年, 北海道で集団発生したクリプトスポリジウム症の原因となった *Cryptosporidium parvum* の遺伝子型について. 道衛研所報, 53, 39-42 (2003)
- 49) Matoba Y, Asano M, Yagi K, Asakawa M : Detection of a taeniid species *Taenia taeniaeformis* from a feral raccoon *Procyon lotor* and its epidemiological significance. Mammal Study, 28, 157-160 (2003)
- 50) Ishiwata K, Shinohara A, Yagi K, Horii Y, Tuchiya K, Nawa, Y : Identification of tissue-embedded ascarid larvae by ribosomal DNA sequencing. Parasitol. Res., 92 (1), 50-52 (2004)
- 51) 阿部仁一郎, 八木欣平 : PCR 法によるアニサキス亜科幼線虫の同定. 生活衛生, 49(3), 168-171 (2005)
- 52) 八木欣平, 高野敬志, 山野公明, 伊東拓也, 澤田幸治, 古屋宏二 : 2002 年, 北海道クリプトスポリジウム症集団発生事例報告. 病原微生物検出情報, 26(7), 171-172 (2005)
- 53) 八木欣平, 三好正浩 : ミトコンドリア遺伝子解析によるヒト寄生性裂頭条虫の種同定法の検討. 道衛研所報, 55, 81-84 (2005)
- 54) 八木欣平, 三好正浩, 松村和子, 根本育恵, 藤田靖幸, 高橋秀史, 岡安健至, 藤田昌宏, 奥祐三郎, 影井 昇 : 北海道でヒトから検出されたマンソン孤虫 2 例について. 日本臨床寄生虫学会誌, 17(1), 94-96 (2006)
- 55) Matoba Y, Yamada D, Asano M, Oku Y, Kitaura K, Yagi K, Tenora F, Asakawa M : Parasitic helminthes from feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. Helminthologia, 43(3), 139-146 (2006)
- 56) 高野敬志, 濱田恵子, 荻原弥生, 八木欣平 : 18 S rRNA 遺伝子部分塩基配列によるエゾシカ筋肉から分離された住肉孢子虫の系統解析. 道衛研所報, 56, 41-44 (2006)
- 57) Kobayashi T, Kanai Y, Ono Y, Matoba Y, Suzuki K, Okamoto M, Taniyama H, Yagi K, Oku Y, Katakura K, Asakawa M : Epidemiology, histopathology and muscle distribution of *Trichinella* T9 in feral raccoons (*Procyon lotor*) and wildlife of Japan. Parasitol. Res., 100(6), 1287-1291 (2007)
- 58) 根本育恵, 松村和子, 藤田靖幸, 高橋秀史, 三好正浩 : 八木欣平 : マンソン孤虫症の一例. 皮膚臨床, 49(11), 1327-1329 (2007)
- 59) 村田知加代, 猪浦一人, 鈴木光江, 関口久男, 宮内優太, 並木 薫, 成富琢磨, 野登はるか, 片山 修, 山本徳栄, 近真里奈, 八木欣平, 山崎 浩, 荒木 潤 : 裂頭条虫症の 1 例. 日本臨床寄生虫学会誌, 18(1), 69-71 (2007)
- 60) 高野敬志, 八木欣平, 浦口宏二, 三好正浩 : 動物糞便を検査対象としたジアルジア調査. 道衛研所報, 57, 101-103 (2007)
- 61) 八木欣平, 寺島寛樹, 高野敬志, 三好正浩 : 食品に混入した動物性異物の遺伝子を用いた同定法の検討—コショウダイン筋肉中の動物性異物の遺伝子解析—. 道衛研所報, 57, 97-99 (2007)
- 62) 矢野昭起 : 地域流行病対策 (エキノコックス症試験検査技術) : 国際協力事業団 (JICA) との共同事業 (特設コース). 北海道のエキノコックス (北海道立衛生研究所編), 北海道立衛生研究所, 札幌, 1999, pp.103-106
- 63) 河野 紘 : 地域流行病対策 (エキノコックス症試験検査技術) 研修について. 北海道のエキノコックス (北海道立衛生研究所編), 北海道立衛生研究所, 札幌, 1999, pp.107-113
- 64) 八木欣平 : 国際協力事業団 (JICA) によるエキノコックス症対策の技術協力のための海外派遣 (ウルクアイ東方共和国での経験). 北海道のエキノコックス (北海道立衛生研究所編), 北海道立衛生研究所, 札幌, 1999, pp.116-117
- 65) de la Rue ML, Takano K, Brochado JF, Costa CV, Soares AG, Yamano K, Yagi K, Katoh Y, Takahashi K : Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E. ortleppi* in Southern Brazil. Vet. Parasitol., 177(1-2), 97-103 (2011)
- 66) 八木欣平 : エキノコックス症 : 日本における多包虫症の実態と人獣共通感染症としてのこれからの課題. 医学のあゆみ, 259(8), 881-887 (2016)
- 67) 山下次郎 : エキノコックス—その正体と対策, 北海道大学図書刊行会, 札幌, 1978
- 68) Matsumoto J, Yagi K, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M : Time-course of antibody response in mice against oral infection with eggs of *Echinococcus multilocularis*. Parasitol., 116, 463-469 (1998)
- 69) 八木欣平, 松本 淳, 山野公明, 川瀬史郎, 孝口裕一, 鈴木智宏, 加藤芳伸 : 多包条虫の虫卵感染実験による各種系統マウスの感受性の検討. 第 52 回日本寄生虫学会北日本支部大会講演要旨集, 7 (2005)
- 70) Matsumoto J, Kouguchi H, Oku Y, Yagi K : Primary alveolar echinococcosis : Course of larval development and antibody responses in intermediate host rodents with different genetic backgrounds after oral infection with eggs of *Echinococcus multilocularis*. Parasitol. Int., 59(3), 435-444 (2010)
- 71) 八木欣平, 松本 淳, 孝口裕一, 山野公明, 川瀬史郎, 鈴木智宏, 後藤明子, 加藤芳伸 : 多包条虫 *Echinococcus multilocularis* 実験室内継代用中間宿主動物としての DBA/2 マウスの有用性の検討. 第 141 回日本獣医学会学術集会講演要旨集, 211 (2006)
- 72) 八木欣平, 松本 淳, 三好正浩, 山野公明, 孝口裕一, 川瀬史郎, 鈴木智宏, 後藤明子, 加藤芳伸 : ヒト多包虫症血

- 清診断用抗原の探偵供給における虫卵感染 DBA/2 マウスについて. 第 143 回日本獣医学会学術集会講演要旨集, 173 (2007)
- 73) Nakao R, Kameda Y, Kouguchi H, Matsumoto J, Dang Z, Simon AY, Torigoe D, Sasaki N, Oku Y, Sugimoto C, Agui T, Yagi K : Identification of genetic loci affecting the establishment and development of *Echinococcus multilocularis*. Int. J. Parasitol., 41(11), 1121-1128 (2011)
- 74) 奥祐三郎, 水上智秋, 土井純子, 松本 淳, 八木欣平 : 多包虫感染マウス (感受性 DBA/2 と抵抗性 C57 BL/6) の肝臓病変部の宿主遺伝子発現. 平成 24 年度日中合同シンポジウム—中国・青海省に蔓延する人獣共通寄生虫・エキノコックス 3 種とウシバエ類の疫学の解明と対策法の確立—抄録集, 29 (2013)
- 75) Johnson KS, Harrison GB, Lightowlers MW, O'Hoy KL, Cogle WG, Dempster RP, Lawrence SB, Vinton JG, Heath DD, Rickard MD : Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. Nature, 338, 585-587 (1989)
- 76) Lightowlers MW : Vaccination against cestode parasites : Vaccination against cestode parasites. Int. J. Parasitol., 26(8-9), 819-824 (1996)
- 77) Gauci C, Merli M, Muller V, Chow C, Yagi K, Mackenstedt U, Lightowlers MW : Molecular cloning of a vaccine antigen against infection with the larval stage of *Echinococcus multilocularis*. Infect Immun., 70(7), 3969-3972 (2002)
- 78) Katoh Y, Kouguchi H, Matsumoto J, Goto A, Suzuki T, Oku Y, Yagi K : Characterization of emY162 encoding an immunogenic protein cloned from an adult worm-specific cDNA library of *Echinococcus multilocularis*. Biochem. Biophys. Acta, 1780(1), 1-6 (2008)
- 79) Kouguchi H, Matsumoto J, Katoh Y, Oku Y, Suzuki T, Yagi K : The vaccination potential of EMY162 antigen against *Echinococcus multilocularis* infection. Biochem. Biophys. Res. Commun., 363(4), 915-920 (2007)
- 80) Tran MH, Pearson MS, Bethony JM, Smyth DJ, Jones MK, Duke M, Don TA, McManus DP, Correa-Oliveira R, Loukas A : Tetraspanins on the surface of *Schistosoma mansoni* are protective antigens against schistosomiasis. Nat Med., 12(7), 835-840 (2006)
- 81) Dang Z, Watanabe J, Kajino K, Oku Y, Matsumoto J, Yagi K, Kouguchi H, Sugimoto C : Molecular cloning and characterization of a T24-like protein in *Echinococcus multilocularis*. Mol. Biochem. Parasitol., 168(1), 117-119 (2009)
- 82) Dang Z, Yagi K, Oku Y, Kouguchi H, Kajino K, Watanabe J, Matsumoto J, Nakao R, Wakaguri H, Toyoda A, Sugimoto C : Evaluation of *Echinococcus multilocularis* tetraspanins as vaccine candidates against primary alveolar echinococcosis. Vaccine, 27(52), 7339-7345 (2009)
- 83) Dang Z, Yagi K, Oku Y, Kouguchi H, Kajino K, Matsumoto J, Nakao R, Wakaguri H, Toyoda A, Yin H, Sugimoto C : A pilot study on developing mucosal vaccine against alveolar echinococcosis (AE) using recombinant tetraspanin 3 : Vaccine efficacy and immunology. PLoS Negl. Trop. Dis., 6(3), e1570 (2012)
- 84) Dang Z, Feng J, Yagi K, Sugimoto C, Li W, Oku Y : Mucosal adjuvanticity of fibronectin-binding peptide (FBP) fused with *Echinococcus multilocularis* tetraspanin 3 : systemic and local antibody responses. PLoS Negl. Trop., 6(9), e1842 (2012)
- 85) Dang Z, Yagi K, Li W, Sugimoto C, Oku Y : Vaccine development against alveolar echinococcosis using tetraspanin. Abstract of International symposium on cestode zoonoses control, 60 (2012)
- 86) Nonaka N, Kamiya M, Kobayashi F, Ganzorig S, Ando S, Yagi K, Iwaki T, Inoue T, Oku Y : *Echinococcus multilocularis* infection in pet dogs in Japan. Vector Borne Zoonotic Dis., 9(2), 201-206 (2009)
- 87) Kouguchi H, Matsumoto J, Katoh Y, Suzuki T, Oku Y, Yagi K : *Echinococcus multilocularis* : two-dimensional Western blotting method for the identification and expression analysis of immunogenic proteins in infected dogs. Exp. Parasitol., 124(2), 238-243 (2010)
- 88) 孝口宏一, 山野公明, 加藤芳伸, 鈴木智宏, 八木欣平 : 犬のエキノコックス症血清診断用抗原候補の抽出・精製. 道衛研所報, 60, 75-78 (2010)
- 89) Kouguchi H, Matsumoto J, Yamano K, Katoh Y, Oku Y, Suzuki T, Yagi K : *Echinococcus multilocularis* : purification and characterization of glycoprotein antigens with serodiagnostic potential for canine infection. Exp. Parasitol., 128(1), 50-56 (2011)
- 90) Kouguchi H, Matsumoto J, Nakao R, Yamano K, Oku Y, Yagi K : Characterization of a surface glycoprotein from *Echinococcus multilocularis* and its mucosal vaccine potential in dogs. PLoS One, 8(7), e69821 (2013)
- 91) Kouguchi H, Irie T, Matsumoto J, Nakao R, Sugano Y, Oku Y, Yagi K : The timing of worm exclusion in dogs repeatedly infected with the cestode *Echinococcus multilocularis*. J Helminthol., 90(6), 766-772 (2016)
- 92) 佐藤直樹 : エキノコックス症 (多包条虫) 診断と治療のガイドライン, 北海道エキノコックス症対策協議会エキノコックス症患者調査専門委員会編, 北海道, 2010, pp.15-27
- 93) Brunetti E, Kern P, Vuitton DA : Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Trop., 114(1), 1-16 (2010)
- 94) Hemphill A, Stadelmann B, Rufener R, Spiliotis M, Boubaker G, Müller J, Müller N, Gorgas D, Gottstein B : Treatment of echinococcosis : albendazole and mebendazole—what else? Parasite, 21, 70 (2014)
- 95) Matsumoto J, Sakamoto K, Shinjyo N, Kido Y, Yamamoto N, Yagi K, Miyoshi H, Nonaka N, Katakura K, Kita K, Oku Y : Anaerobic NADH-fumarate reductase system is predominant in the respiratory chain of *Echinococcus multilocularis*, providing a novel target for the chemotherapy of alveolar echinococcosis. Antimicrob. Agents Chemother., 52(1), 164-170 (2008)
- 96) 北 潔, 遠海重裕, 坂元君年, 松本 淳, 八木欣平, 片倉 賢, 奥祐三郎, 藤田 修, 野崎智義 : 薬剤標的としてのエキノコックスミトコンドリアのフマル酸呼吸. 平成 24 年度日中合同シンポジウム—中国・青海省に蔓延する人獣共通寄生虫・エキノコックス 3 種とウシバエ類の疫学の解明と対策法の確立—抄録集, 11 (2013)
- 97) 遠海重裕, 稲岡ダニエル健, 坂元君年, 入江隆夫, 孝口裕一, 八木欣平, 斎本博之, 北 潔 : *Echinococcus multilocularis* ミトコンドリアの呼吸鎖を標的にした創薬. 第 85 回日本寄生虫学会講演要旨集, 62 (2016)
- 98) Huang F, Dang Z, Suzuki Y, Horiuchi T, Yagi K, Kouguchi H, Irie T, Kim K, Oku Y : Analysis on Gene Expression Profile in Oncospheres and Early Stage

Metacestodes from *Echinococcus multilocularis*. PLoS Negl. Trop. Dis., 10(4), e0004634 (2016)

99) 山本徳栄, 近真理奈, 山口正則, 丹野嗟喜子, 小山雅也, 前野直弘, 東久, 水澤馨, 木村弘, 森嶋康之, 川中正憲: 埼玉県内の犬の糞便から検出されたエキノコックス (多包条虫) の虫卵. 病原微生物検出情報, 26(11),

307-308 (2005)

100) 登丸優子, 福本真一郎, 森嶋康之, 川中正憲: 本州以南第2例目の届け出となった犬のエキノコックス (多包条虫) 症—愛知県. 病原微生物検出情報, 35(7), 183 (2014)