

住血吸虫症の感染防御免疫とその予防・治療的応用に関する研究

主任研究者 太田 伸生 名古屋市立大学教授

研究要旨

日本住血吸虫症の感染宿主の免疫応答を分子的に解析し、感染防御や慢性症状発症の機序解明をマウスの実験的感染の系で行ない、予防と治療の新しい方法開発への応用を研究した。今年度は感染防御に直接関与する宿主応答の機能を明らかにし、日本住血吸虫の保虫宿主を対象としたワクチンの実用化とその流行対策事業への導入を検討した。ブタを用いたパラミオシンによる日本住血吸虫ワクチン試験を行ない有効な成績を得たほか、新たな家畜用日本住血吸虫ワクチンの候補分子としてカルパインの研究を進めた。流行の実態把握および流行予測に応用できる新規方法開発として、簡便で信頼性の高い診断法の開発も引き続いて行ない、患者の尿を用いた方法の実用化の見通しが明かとなった。流行予測には地理情報システムによる疫学評価が有用であり、中国の流行地をモデル地区として設定して日本住血吸虫の中間宿主の分布状況解析の予備調査に着手した。国内の住血吸虫症研究を支援する目的でヒト寄生性住血吸虫の安定供給体制の構築に努め、今年度はビルハルツ住血吸虫の実験室内維持を確立とスナネズミなど新しい感染動物モデルの開発・改良を進めた。以上の研究を通じて、国内外の住血吸虫症コントロールの効率化をめざした。

研究分担者

小島 莊明・東京大学医科学研究所教授
平山 謙二・埼玉医科大学教授
金澤 保・産業医科大学教授
伊藤 誠・愛知医科大学助教授

A. 研究目的

住血吸虫病の国内での流行は終息したが、熱帯地方を中心とする地球上の67ヵ国では依然として流行が続いており、今日なお約2億人の感染者が存在している。日本国内の旧流行地である山梨県では日本住血吸虫の中間宿主貝の生息密度が回復しつつある現状では住血吸虫流行の再興の可能性はゼロではなく、本症の監視を行なっていくことが望まれている。途上国で住血吸虫症の防圧が進まない原因は広大な中間宿主貝生息域の存在、社会基盤整備の立ち遅れ、衛生教育の不徹底などが複合的に作用するためであり、物理的に感染が避けられないと思われる環境も多数存在する以上、従来の対策法でとられてきた方法論の他に新しい防圧戦略を考える必要がある。本研究ではこのような現状に即して、当面要求される実効性の高い住血吸虫症対策の再構築を行なうことを目的とした。ここでは住血吸虫感染宿主に見られる多様な免疫応答を解析し、サイトカイン動態など免疫調節のキーとなる分子の意義を解明して、その応答を発症防止のための安全で効果の高い方法に応用することを試みた。また感染動態把握のための免疫学的パラメーターの研究を進め、流行地住民の診断や症状進行の状態の判定を簡便に行なう方法を開発することをめざした。それらの成果を海外の住血吸虫流行地の疾病対策に応用することを図

る一方で、国内の旧流行地の監視と輸入症例への対応を強化するために、地理情報システム/リモートセンシングの中間宿主貝の生息状況モニタリングへの応用、住民検診にも応用しうる簡易診断法の開発、住血吸虫症に関する正確な情報提供のシステム整備、国内の住血吸虫抗原などの生物試料供給体制の維持強化や実験動物モデルの開発を進めることとした。

B. 研究方法

今年度は3年計画の最終年度であり、実験データの最終取りまとめとその研究成果の総括を行なった。研究内容は大きく3つのグループに分けられ、それぞれ異なった方法、アプローチから研究を進めた。

(1) 終宿主動物の感染抵抗性、発病感受性の免疫生物学的解析：感染防御と病理発現とそれによって明らかになった成果の一部をワクチン開発に応用することを試みた。マウスを用いて感染抵抗性に関与する宿主免疫応答の特徴を明らかにすることを目的として、インターフェロン γ の機能的意義について検討を行ない、IRF1 (Interferon regulating factor 1) 遺伝子欠損マウスにおける感染抵抗性をチャレンジ感染における回収虫体数を指標にして調べた。さらに住血吸虫症の症状を特徴付ける虫卵周囲肉芽腫形成に及ぼす各種サイトカインの影響をIFN γ やIL-4のノックアウトマウスで調べた。住血吸虫感染による宿主免疫応答の改変状態は宿主動物の生体防御システムに影響している可能性があるため、住血吸虫感染状況下での他の感染性病原体に対する抵抗性の変化を検討した。この目的のためにマンソン住血吸虫とネズ

ミマラリアの重複感染マウスを調べ、マラリアに対する感染抵抗性に如何なる変化が起こるかを調べた。再感染防御機構研究の応用的展開として保虫宿主動物を対象としたワクチン実用化を図ることにし、日本住血吸虫のワクチン候補分子であるパラミオシンやカルパインに対する宿主免疫応答をマウスで詳しく調べ、パラミオシンのワクチン効果をブタを用いて検討した。

(2) 住血吸虫症流行の実態把握のための簡易評価法の開発：流行現場でのヒトや家畜の感染状況を安全且つ簡便に調べるために、血液材料を用いない免疫診断法の開発研究を引き続いて行なった。尿中に住血吸虫の抗原あるいはその特異抗体を検出する方法を確立することによって、流行地域での感染状況の調査を被検者の苦痛をなくして実施することが可能となると期待される。中国湖南省の日本住血吸虫症感染者の尿を原液で、血清は200倍希釈でELISAに用い、可溶性虫卵抗原に対する特異抗体を検出した。今年度は尿を用いたドットELISAでも診断する方法を確立するために、ニトロセルロースメンブレンへの抗原の吸着、ブロッキング、2次抗体の標識条件等の検討を行った。また、吸虫類は免疫診断において交差反応性が高く、診断に困難を来すことが多い。この問題を解決するためにすでに解析の進んでいるレコンピナント住血吸虫抗原を用いたELISAでの多種吸虫感染ヒト血清の反応性を比較検討した。

(3) 日本住血吸虫中間宿主貝生息状況調査への地理情報システムへの応用：人工衛星画像を用いたりモートセンシングによって日本住血吸虫中間宿主貝の生息状況や生息環境の評価などを行なうことの予備調査として、中国湖南省の流行地を選定して、人工衛星画像で得られるさまざまなパラメータと実際の貝の分布地域の土地利用、植生、土壌分析、貝の生息密度などとの関係を調べた。

(4) 住血吸虫の実験室内維持および供給体制の構築と新しい感染動物モデルの開発：ヒト寄生性の住血吸虫3種を実験室内で維持し、診断、治療などの研究の支援やレファレンス体制を構築するために、3種のうちで実験室内維持に困難が大きかったビルハルツ住血吸虫の維持を確立することを行なった。BALB/cマウスにビルハルツ住血吸虫を経皮的に感染させ、マウス肝門脈系から成虫と虫卵を回収し、これをさらに中間宿主貝に感染させることを繰り返した。成虫の回収数、雌雄の性比を観察した。また、ヒトの住血吸虫感染動態と比較的類似点の高いスナネズミの住血吸虫症研究へのより広範な応用を図るために、スナネズミの免疫担当細胞に対する単クローン抗体を作製して、住血吸虫感染免疫の研究モデルとしての応用を検討した。

(5) 住血吸虫の情報ネットワークの整備：日本国内の住血吸虫症に関する臨床医、他領域研究者な

どを対象としたホームページを開設し、本研究班の成果を含む疫学、診断、治療などの情報を提供するシステムの運用を行なった。海外の住血吸虫症対策事業とのリンクを図るため、東アジアの日本住血吸虫症対策ネットワークとの情報交換のシステムを立ち上げることを検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトの日本住血吸虫症患者由来の生物試料は海外の研究者との合意に基づく共同研究を介して入手したもので、調査地区の省政府衛生部の許可を得た上で、被検者の同意のもとに採取した。動物を用いた感染実験は、すべて各研究施設の「動物実験指針」または「実験動物管理規定」に従って行ない、実験施設管理責任者の許可のもとに可能な限り苦痛を与えない方法で実験を実施した。

C. 研究結果

(1) 終宿主動物の感染抵抗性、発病感受性の免疫生物学的解析：日本住血吸虫の感染防御や発症機序における免疫応答調節分子としての各種サイトカインの関与を検討するために、IFN γ とIL-4の遺伝子改変マウスを用いて検討した。前年に引き続いてIRF1欠損マウスでの感染防御機能障害が明らかに観察され、感染防御におけるIFN γ の重要性が確認された。この結果、ワクチンにおいてIFN γ の応答誘導が鍵となることがわかった。一方、日本住血吸虫の虫卵周囲肉芽腫形成におけるIFN γ とIL-4の役割をそれぞれのノックアウトマウスで調べたところ、ともに肉芽腫の大きさには対照マウスとで急性期には著明な差は認められなかったが慢性期には有意に縮小した。従来からマンソン住血吸虫で明らかにされたような単純なTh2細胞依存性の肉芽腫形成機序がそのまま日本住血吸虫にあてはまるものではないと考えられた。IFN γ ノックアウトマウスでは肉芽腫のサイズの減少に加えて肉芽腫を構成する細胞に変化があり、肉芽腫形成の調節にそれぞれのサイトカインが関与することがわかった。その結果、発病阻止ワクチンでいかなるサイトカインの産生誘導調節を標的とするべきかについての明確な結論は得られなかったが少なくともIL-4の産生抑制が宿主に有利に働くと考えられる。

マンソン住血吸虫感染が宿主の生体防御機構を改変することを実験的に証明するために、マンソン住血吸虫感染AJマウスにネズミマラリアである*Plasmodium chabaudi*を感染させたところ、対照AJマウスでは全例がマラリア感染8日までに死亡する。ところが住血吸虫との重複感染では100%のマウスが生存した。この効果は抗IFN γ 抗体処理で消失し、T細胞による変化であることが示唆された。従来はマンソン住血吸虫はTh2応答誘導活性が強いとされてきたが、寄生宿主の体内環境によってはTh1応答を強く誘導する場合の

あることがわかった。

感染宿主の免疫応答研究はワクチン開発を通じて応用価値が付加される。日本住血吸虫のワクチン候補分子としてパラミオシンとカルパインをこの研究班では研究した。カルパインは新しいワクチン候補分子で、本研究班で日本住血吸虫のカルパインをクローニングしてリコンビナント分子を得た。これを BALB/c マウスに免疫して日本住血吸虫をチャレンジ感染させたところ、WHO 基準を満足する回収虫体数の有意な低下と形成される虫卵周囲肉芽腫の平均サイズの有意な減少が観察され、日本住血吸虫ワクチンの新しい候補分子としての意義が確認された。すでに WHO によってワクチン候補分子として認められているパラミオシンの実際の家畜での応用を目指して、ブタでの感染防御誘導活性を調べた。免疫群ではアジュバントのみの群と比較して 34.5% の虫体回収数の現象がみられた。しかし肝臓に形成された虫卵肉芽腫の平均サイズには対照群と有意差がなかった。

(2) 住血吸虫症流行の実態把握のための簡易評価法の開発：感染者の尿を原液のままマイクロタイタープレートの ELISA に用いることによって、日本住血吸虫虫卵抗原に特異的な抗体を検出することが可能であり、それは血清を用いた ELISA と比べて感度および特異性の面で高い相関を示した。尿は中国で採取後窒化ソーダを添加して保存していたものであるが、37℃ の保存条件で 1 月間は抗体価の低下は見られなかった。流行地の現場で用いるためには抗原も安定かつ安価なものが望ましい。そこで加熱 KLH を用いたところ、この系で用いることが可能であると判定された。尿中の特異抗体ドット ELISA で検出する方法の標準化も進め、パラハイドロキシプロピオン酸カゼインを用いたブロックング、ピオチン・チラミン及びペルオキシダーゼ標識 2 次抗体の使用により感度、特異性とも大きく改善することができた。

191 個のアミノ酸からなる日本住血吸虫抗原のリコンビナント分子(SJA111) を用いた ELISA では日本住血吸虫感染者もタイ肝吸虫感染者の血清もともに高い OD 値を示し、交差反応の分子の根拠を明らかにするモデルと考えられた。

(3) 日本住血吸虫中間宿主貝生息状況調査への地理情報システムの応用：中国湖南省の日本住血吸虫症濃厚流行地の人工衛星画像を入手し、そのフォールスカラー解析と実地の水質、土壌、土地利用などとの関係を確認した。実際の現場の状況をもとに、中間宿主貝の繁殖に適した地域の同定を行ない、また中国の流行地における中間宿主貝繁殖地の土壌分析と併せて、環境変化による貝の分布状況の予測シミュレーションをおこなった。

(4) 住血吸虫の実験室内維持と供給体制の構築と新しい感染動物モデルの開発：ビルハルツ住血吸虫感染 BALB/c マウスからは 7 サイクルまで終宿

主-中間宿主の継代を続けることに成功した。成虫の回収率は 0.6~4.2% と低値であるが、現在の方法で維持可能なことがわかった。得られた成虫の性比は雄 3 : 雌 1 であり、技術的には雌の比率を高くするような改良の必要があると思われた。

住血吸虫感染モデル動物としてのスナネズミは感染感受性が良好で、病理所見も心筋炎や腎炎などヒトの臨床症状と類似点があった。ヒトの病態を解析するためにスナネズミの T 細胞や MHC クラス II 分子に対する単クローン抗体を確立し、その抗体処理による感染感受性の調節が可能であることを確認した。

(5) 住血吸虫の情報ネットワークの整備：国内の住血吸虫症の情報提供のためのホームページ (<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/mzool.dir/index-2.html>) を今年度より開設した。住血吸虫症に関する一般的な情報から開始したが、今後は流行の動向、診断法の改良、WHO の対策事業に関する情報などを提供する計画とし、一般の方からのアクセスも受けている。世界の住血吸虫対策とのリンクを強化することのために、アジア地区の日本住血吸虫症対策のための Regional Network on Asian Schistosomiasis (RNAS) と連携をとり、この地域の住血吸虫病対策に協力する方向で努力することで合意した。

D. 考察

本研究課題では住血吸虫感染宿主の免疫応答をワクチンなどの防御免疫、抗原認識の解明をもとにした免疫診断、病態把握のパラメーターなどに応用して、住血吸虫流行の実態把握と予防面への実用的応用を目指した。同時に住血吸虫症の再流行防止を主眼にした国内の新しい疾病監視方法の開発、今後とも続くと思われる輸入症例への対応体制維持のための虫の維持、病因研究のモデル動物開発を進めた。感染症において宿主応答研究の第一の目的はワクチンへの応用であり、本研究でも宿主応答の本態が明らかになるのに伴ってワクチン応用を期待できる成果が上がってきた。日本住血吸虫はヒトの他に水牛、ブタ、イヌなどの保虫宿主が病気の流行維持に重要な関与をしており、家畜のワクチンが実現できるだけでも公衆衛生学的に影響が大きい。今年度はこの研究班で研究を続けてきていたパラミオシンのブタでの試験を行ない、34% の感染防御効果が確認された。マウスで確認されていたパラミオシンの防御免疫誘導効果が動物で初めて明らかになったことになり、今後細かな点の改良を加えて流行地での実地試験を続ける必要がある。パラミオシンの他にカルパインもマウスで明らかなワクチン効果が認められ、特に病理発現抑止効果が大きいことが特徴であった。この分子についても準備を急いで、家畜での試験に付すことを進めたい。

住血吸虫症の流行地ではさまざまな感染症も同時に存在しているが、住血吸虫感染が宿主の生体防御効果に変化を与えたとしたら、疫学的には重要な意味であり得る。従来から住血吸虫症流行地域では癌が多発することが知られているが、詳細な疫学調査をもとにして、ヒトでもマウスと同様に住血吸虫感染による生体防御機能改変が起きているのかどうかの検討が必要である。

尿を用いた免疫診断に関してはほぼ実用化の段階に至ることができた。尿を用いることのメリットは被検者の苦痛が少なく、検査者の血液を介した感染を回避できるため検査を頻回に実施でき、集団検診などの際に住民のコンプライアンスを高くすることに効果的である。最終的には血清による診断にとってかわる方法とすることを旨としており、流行地住民の尿、血清、および検便の各パラメーターの相関を確認する研究を継続中である。今後の課題としては尿中に特異抗体を検出するのみでなく、住血吸虫の循環抗原の検出システムを確立し、さらに dip-stick 化して数分程度の短時間での診断を行えるようにすることで実用的価値が飛躍的に増加すると期待される。

新興・再興感染症として住血吸虫症の問題を国内の視点で論じるならば、山梨県に中間宿主貝が今なお生息している状況は再流行を何らかの形で監視することの必要を訴えるものである。本研究班では中間宿主貝の生息動向を地理情報システムでモニターしながら、効率的な中間宿主貝対策を行なうことを進めることの効果を期待している。この方法自体はまだ十分に確立されたものではないため、日本国内のように現場の調査も容易におこなえる状況で基礎的データを集め、それを海外の流行地での利用が可能のように検討を進めることが重要である。中国ではこの数年の揚子江流域の大洪水や三峡ダム建設にともなう揚子江流域の環境変化をモニターして、日本住血吸虫症対策に活用することが強く望まれており、わが国からもその方面への貢献を図るべきであろう。

輸入感染症としての国内対応も必要である。住血吸虫症は慢性に経過し、ピルハルツ住血吸虫症以外では発病を特徴付ける症状を欠くことから、近年日本国内で年間どの程度の輸入症例があるのかの信頼に足るデータがない。それは中間宿主貝が存在する山梨では無視できないことであり、少なくとも診断と治療に十分に対応するシステムは残しておく必要がある。住血吸虫の実験室内維持は大変な労力と熟練した技術が要求され、安定的に住血吸虫関連の生物試料を国内で確保するにはわが国の大学、研究所の状況は厳しくなる一方である。今後は少数施設ではあっても3種のヒト寄生性住血吸虫を維持していく体制を確保するように然るべき管理を行なうようにしたい。

日本住血吸虫症のコントロールの効率化をわ

が国が中心となって推進するためには、海外の流行地の対策事業と情報交換を密にする体制を整備しなくてはならない。近年、マラリアのネットワーク化が WHO でも強力に推進され、対策事業、基礎研究ともに国際協力体制が進みつつある。土壌伝播蠕虫対策とリンクした住血吸虫症対策は WHO の重要プロジェクトと位置付けられ、今後はマラリアと同様の国際ネットワーク整備が求められることになる。その第一歩として東アジア地区の国際ネットワーク確保が本研究班を母体として始まったことはわが国の新興・再興感染症対策に有益であり、同時にわが国の国際寄生虫対策への意義深い貢献となると考えている。

E. 結論

住血吸虫感染宿主の免疫応答の生物学的解析をもとにして、住血吸虫感染のもつ疫学的意義、診断法への応用、ワクチン開発への応用などを進めた。住血吸虫感染では特徴ある宿主応答が見られ、場合によっては住血吸虫感染宿主が癌、自己免疫疾患、ウイルス感染症、蠕虫感染症などの感受性を規定している可能性が明らかとなった。住血吸虫感染者の尿には微量の特異抗体が排泄されていることがわかり、それを利用した非観血的免疫診断の実用化が可能であると結論した。住血吸虫ワクチン開発の是非の議論があるが、日本住血吸虫ではヒト以外の保虫宿主動物が多く、それらを対象としたワクチン開発の重要性がある。日本住血吸虫のパラミオシンにはブタを用いた実験で有意な感染防御効果が認められ、大型家畜動物での日本住血吸虫ワクチン実用化を示唆する実験結果が初めて得られた。パラミオシン以外にもカルパインのワクチン化に向けての研究が進展した。住血吸虫症の監視のための新しい方法論の導入、国内の住血吸虫の実験室内維持、住血吸虫症に関するコンピューターネットワークの構築などを通じて、国内外の住血吸虫症対策をダイナミックに展開し、臨床的あるいは衛生行政的なニーズに応えることに努めた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hayashi N, Matsui K, Tsutsui H, Osada Y, Mohamed RT, Nakano H, Kashiwamura S, Hyodo Y, Takeda K, Akira S, Hada T, Higashino K, Kojima S & Nakanishi K. : Kupffer cells from *Schistosoma mansoni*-infected mice participate in the prompt type 2 differentiation of hepatic T cells in response to worm antigens. J Immunol, 1999, 163:6702-6711.

Aryeetey ME, Aholu C, Wagatsuma Y, Bentil G, Nkrumah FK & Kojima S. : Health Education and community participation in the control of urinary

- schistosomiasis in Ghana. *E Afr Med J*, 1999, 33:324-329
- Wagatsuma Y, Aryeetey ME, Sack DA, Morrow RH, Hatz C & Kojima S. : Resolution and resurgence of *Schistosoma haematobium*-induced pathology after community-based chemotherapy in Ghana, as detected by ultrasound. *J Infect Dis*, 1999, 179:1515-1522.
- Hirayama K, Chen H, Kikuchi M, Yin T, Gu X, Liu J, Zhang S & Yuan H. : HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population. *Tissue Ant*, 1999, 53:269-274.
- Itoh M, Qiu X-G, Koyama Y, Ogawa Y, Weerasooriya MV, Visanou H, Fujimaki Y & Kimura E. : Detection of circulating *Wuchereria bancrofti* antigen, filaria specific IgG and IgG4 in chyluria cases in Japan. *Jpn J Trop Med Hyg*, 1999, 27:483-486.
- Yoshida A, Maruyama H, Yabu Y, Amano T, Kobayakawa T & Ohta N. : Immune responses against protozoal and nematodal infection in mice with underlying *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitol Int*, 1999, 48:73-79.
- Zhang R, Suzuki T, Takahashi S, Yoshida A, Kawaguchi H, Maruyama H, Yabu Y, Fu J, Shirai T & Ohta N. : Cloning and molecular characterization of calpain, a calcium-activated neutral proteinase, from different strains of *Schistosoma japonicum*. *Parasitol Int*, 2000, 48:233-242
- Maruyama H, Osada Y, Yoshida A, Futakuchi M, Kawaguchi H, Zhang R, Fu J, Shirai T, Kojima S & Ohta N. : Protective mechanisms against the intestinal nematode, *Strongyloides venezuelensis*, in *Schistosoma japonicum*-infected mice. *Parasite Immunol*, *in press*.
- Yoshida A, Maruyama H, Kumagai T, Amano T, Kobayashi F, Zhang R, Himeno K & Ohta N. : *Schistosoma mansoni* infection cancels the susceptibility to *Plasmodium chabaudi* through induction of Th1 dominant circumstances in the susceptible A/J mice. *Int Immunol*, *in press*.
- Chen H, Nara T, Zeng X, Satoh M, Wu G, Kojima S, Zhang S & Hirayama K. : Vaccination of domestic pig with recombinant paramyosin against *Schistosoma japonicum* in China. *Vaccine*, *in press*.
- 太田伸生 : 住血吸虫症 最新医学 54 卷 別冊「感染症とその治療」1999, 54:1620-1627.
- 太田伸生 : 中国の寄生虫病の現状と展望 日中医学 2000, 14:7-8
- 小島荘明 : 住血吸虫症ワクチン 医学のあゆみ 1999, 191:83-87.
- 平山謙二 ; 寄生虫感染の重症化に関与する遺伝子医学のあゆみ 1999, 191:124-130
- 小島荘明 : 住血吸虫症ワクチン 日本における寄生虫学の研究 6. 1999, 407-420.
- 金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子 : 目でみる人獣共通寄生虫症 1. 日本醫事新報、2000、3951:33-36.
- 金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子 : 目でみる人獣共通寄生虫症 2. 日本醫事新報、印刷中
- 金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子 : 目でみる人獣共通寄生虫症 3. 日本醫事新報、印刷中
- 2 学会発表
- Hayashi M, Shimada M, Masuda K, Habe S & Kanazawa T. : A new attempt of maintain of *Schistosoma haematobium* in a laboratory. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木
- Maruyama H, Osada Y, Yoshida A, Futakuchi M, Kawaguchi H, Zhang R, Shirai T, Kojima S & Ohta N. : *Schistosoma japonicum* infection induces resistance to experimental strongyloidiasis in mice. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木
- Zhang R, Takahashi S, Maruyama H, Yoshida A, Yabu Y, Shirai T & Ohta N. : Cloning and molecular characterization of calpain, a calcium-activated neutral proteinase, from different strains of *Schistosoma japonicum*. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木
- Igarashi K, Odajima H, Kuroiwa C, Oudavong B, Tannavong C & Ohta N. : Analysis of relationship between asthmatic episodes and helminth infection in the Laotian children. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木
- Yoshida A, Maruyama H, Amano T, Kobayashi F, Tanabe K, Ohta N. : Analysis of resistance to

Plasmodium chabaudi in *Schistosoma mansoni* infected mice. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木

Itoh M, Qiu X-G, Kimura E, Weerasooriya M V, Gunawardena N K, Fujimaki Y, Kimura E. : Detection of endemic area of bancroftian filariasis by ELISA using urine samples. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木

Osada Y, Mohamed R T, Horie T, Pan S, Matsumoto N & Kojima S. : A monoclonal antibody that suppresses egg production from *Schistosoma japonicum* in vitro. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木

Nakanishi K, Hayashi N, Matsui K, Tsutsui H, Osada Y, Mohamed R T, Hyodo Y, Hada T, Kojima S & Higashino K. : *Schistosoma mansoni*-elicited kupffer cells may be responsible for type 2-differentiation of hepatic T cells in response to adult worms products. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木

Tsubota S, Nara T, Kojima S & Ohmae H. : Characterization of B cell epitopes of *Schistosoma japonicum* paramyosin recognized by Philipino patients. 第 68 回日本寄生虫学会大会、1999 年 4 月、栃木

佐藤正夫、張紹基、小島莊明、平山謙二、奈良武司、陳紅根、曾小軍 : 中国ブタを用いた組換えパラミオシンのワクチン効果 日本熱帯医学会、1999 年 9 月、東京

張 仁利、川口 仁、鈴木高史、齋 義貞、吉田彩子、丸山治彦、太田伸生 : 日本住血吸虫カルパイン遺伝子のクローニングとリコンビナント蛋白質の免疫学的特性 第 55 回日本寄生虫学会西日本支部大会、1999 年 10 月、三重

Kojima S. : Parasitology research into the twenty-first century. The 11th Japan-China joint seminar on Parasitic diseases, 1999, 10, Nanjing, China.

Nihei N, Kobayashi M, Ohta N, Saitoh Y, Matsuda H & Kondoh A. : Application of remote sensing for the analysis of distribution of schistosomiasis japonica in Philippine and China. The 11th Japan-China joint seminar on Parasitic diseases, 1999, 10, Nanjing, China.

Ohta N, Yoshida A, Maruyama H, Amano T, Kobayashi F & Himeno K. : Schistosome parasites

modulate biodefence system of the hosts during murine experimental infection. The 11th Japan-China joint seminar on Parasitic diseases, 1999, 10, Nanjing, China.

吉田彩子、丸山治彦、天野皓昭、小林富美恵、張満新、姫野國祐、太田伸生 : *Schistosoma mansoni* 感染が与える *Plasmodium chabaudi* 感受性に対する影響 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会、1999 年 12 月、京都

Hirayama K. : Vaccination of domestic pig with recombinant paramyosin against *Schistosoma japonicum* in China. 2nd Joint Meeting of Regional Network Meeting on Asian Schistosomiasis (RNAS), February, 2000, Tagaytay City, Philippines

住血吸虫症ワクチン開発に関する基礎的並びに応用的研究

分担研究者 小島 莊明 東京大学医科学研究所教授

研究要旨 日本住血吸虫症においては、他の重要住血吸虫症と異なり、家畜やイヌなどヒト以外の動物が保虫宿主として重要である。中国では、揚子江の河川敷にウシ、ブタなどの家畜が放牧され、経済発展の一端を担う一方、日本住血吸虫症の制圧を困難にする原因ともなっている。そこで、本研究では、中国の研究者との共同研究によりブタを用いた日本住血吸虫症ワクチンモデルを確立し、これを用いて組換えパラミオシンのワクチンとしての有効性について検討した。すなわち、生後8週目のブタに中国江西省産 *Oncomelania hupensis hupensis* より遊出したセルカリア120隻を感染させたところ、感染後11週目には50～60%の虫体が成虫として回収された。一方、UV照射したセルカリアで予め免疫した群では、対照群と比較し虫体回収率において49～53%の減少が認められた。また、組換えパラミオシンを用いてalumまたはTiter Maxをアジュバントとして免疫した群では、32～35%の虫体回収率減少が認められ、有意に再感染防御能を誘導できることが明らかとなった。これらの結果から、パラミオシンは有望な住血吸虫症ワクチン候補であることが確認された。

A. 研究目的

日本住血吸虫症においては、ヒト以外に、ウシ、ヤギ、ブタ、イヌ、ネコなどの家畜やペットも保虫宿主となり、ひいてはヒトへの感染をもたらすものとなるため、これら動物への対策も本症の制圧上重要である。特に、中国では、揚子江の河川敷にウシやブタが多数放牧されており、現在厄介な問題となっている。そこで、本研究では、中国の研究者とも協力して実験モデルとしてブタを用い、遺伝子組換えにより大腸菌で人工的に作製したパラミオシンの免疫効果について明らかにすることを目的として研究を行った。

B. 研究方法

生後8週目のブタ1群6匹を用意し、組換え日本住血吸虫パラミオシン (rSJPM) 1mgを、alumまたはTiter Maxをアジュバントとして、4週間隔で2度大腿部皮内に注射し免疫した。防御免疫を誘導できる陽性対照群として、UV照射日本住血吸虫セルカリア (中国株) 400隻を経皮的に感染させ免疫した群を用意した。最終免疫後4週目に、各群ともそれぞれ正常セルカリア120隻で攻撃感染を行い、①攻撃感染後11週目に、門脈からの虫体回収率を指標として、alumまたはTiter Maxのみの非免疫対照群と比較して防御効果を検討するとともに、②各群の門脈灌流時肝臓について、病理組織学的検討を加え、さらに、③攻撃感染直前及び門脈灌流時における抗パラミオシン抗体価をELISAにて測定した。

C. 研究結果

1)虫体回収率：UV照射セルカリア免疫群では、アジュバントのみの非免疫対照群と比較し、攻撃感染後の虫体回収率は50%となり、有意に減少した ($p < 0.001$)。また、rSJPM+alum免疫群及びrSJPM+Titer Max免疫群では、虫体回収減少率はそれぞれ32.9% ($p < 0.0001$) 及び34.5% ($p < 0.005$) と、有意の減少が認められた。2)病理組織学的検討：ブタの肝臓における虫卵結節形成は、人体のそれと類似しており、免疫群では、虫卵結節数の減少が認められ、かつ結節における浸潤細胞も円形細胞、好酸球が主体をなしていた。3)抗rSJPM IgG抗体産生：UV照射セルカリア免疫群では、攻撃感染前にも、また門脈灌流時にも、抗体産生は極めて低かったのに対し、rSJPMで免疫した群、特に、rSJPM+Titer Max免疫群においては、高い抗体価で産生が認められた。

D. 考察

上記の実験成績から、ブタが日本住血吸虫症ワクチン効果判定の良い実験モデルとなることが明らかになるとともに、パラミオシンが住血吸虫症ワクチンの候補分子として有力なものであることが明確となった。また、防御免疫のエフェクター機構としては、抗体産生のほとんどみられなかったUV照射セルカリア免疫群でも強い免疫が誘導されたことから、細胞性免疫の可能性も考えられ、今後の検討が必要である。

E. 結論

パラミオシンは住血吸虫症ワクチンとして有効なことが明らかとなり、今後、家畜の感染防御への応用について検討するとともに、安全性並びに効果持続期間等について検討を重ね、人体応用を目指すべきであると考えられた。
(研究協力者：平山謙二、奈良武司)

F. 研究発表

1. 論文発表

1)Chen, H., Nara, T., Zeng, X., Satoh, M., Wu, G., Kojima, S., Zhang, S. and Hirayama, K.: Vaccination of domestic pig with recombinant paramyosin against *Schistosoma japonicum* in China. Vaccine, in press.

2)Wagatsuma, Y., Aryeetey, M.E., Sack, D.A., Morrow, R.H., Hatz, C. and Kojima, S.: Resolution and resurgence of *Schistosoma haematobium*-induced pathology after community-based chemotherapy in Ghana, as detected by ultrasound. J. Infect. Dis., 179:1515-1522, 1999.

3)Hayashi, N., Matsui, K., Tsutsui, H., Osada, Y., Mohamed, R.T., Nakano, H., Kashiwamura, S., Hyodo, Y., Takeda, K., Akira, S., Hada, T., Higashino, K., Kojima, S. and Nakanishi, K.: Kupffer cells from *Schistosoma mansoni*-infected mice participate in the prompt type 2 differentiation of hepatic T cells in response to worm antigens. J. Immunol., 163: 6702-6711, 1999.

4)小島莊明:住血吸虫症ワクチン. 大鶴正満・亀谷了・林 滋生監修「日本における寄生虫学の研究」第6巻、目黒寄生虫館、東京、407-420, 1999.

中国における日本住血吸虫の主要な保有宿主の一つであるブタに対する組み換えパラミオシンワクチンの予防効果の検討

分担研究者 平山謙二 埼玉医科大学医学部教授

研究の要旨

中国における日本住血吸虫の主要な保有宿主の一つであるブタに対する組み換えパラミオシンワクチンの予防効果の検討を行なった。16週令の中国ブタは住血吸虫中国株セルカリア120隻の経皮感染に対して感受性を示し11週後に環流したところ50—60%の成虫を回収することが出来た。これにあらかじめ紫外線照射セルカリア400隻を感染させ免疫した場合は53%の感染防御を示した。また組み換えパラミオシンをアラムあるいはタイターマックスをアジュバントとして皮内注射して免疫した群では32—35%の防御能を獲得した。

A. 研究目的

日本住血吸虫症はヒト以外に家畜や野生ねずみなどの哺乳類を終宿主とする人畜共通感染症である。そのため侵淫地である中国では家畜の感染が防あつ対策を遂行するうえで重要な問題となっている。プラジカンテルによる家畜の治療なども行なわれているがヒトのように教育することが不可能であり施行後長期にわたる効果が期待されるワクチンの実用化が待たれている。そこで我々は動物実験で効果が証明されている有力なワクチン候補であるパラミオシンの組換え型のブタに対する予防効果について検討した。

B. 研究方法

抗原として組み換えパラミオシンRecombinant paramyosin (rSJPM) を用いた。免疫の際にはこれにアジュバントとしてタイターマックスTiterMax (CRx社Atlanta, GA, USAあるいはアラムを混合した。免疫のプロトコールは以下の通りである。ブタは8週令のものを繁殖業者から購入した。種類は広く飼育されているダニッシュランドレース種という中国とイギリスの混血種でこれを各グループ6頭づつ清潔な豚舎で飼育した。紫外線照射セルカリアは神谷らの方法によった。4週間隔で2回の免疫の後4週後に120隻のセルカリアを経皮感染させた。感染から11週後に開腹し腸間膜動脈から門脈にかけて灌流して寄生した住血吸虫成虫をすべて回収した。実験の経過中に採血しELISAを用いてパラミオシンに対するIgG抗体価を測定した。便中の虫卵は沈澱法を用いて算定した。灌流後肝臓の1部を切り出しホルマリン固定後薄切切片としHE染色後虫卵周囲の肉芽腫の観察を行なった。

C. 研究結果

灌流によって得られた結果と肉芽腫の結果を表1に示すが、アジュバントだけのコントロール群にくらべて紫外線照射セルカリア免疫群では有為に感染虫体数が減少しており、対象としたブタが十分な感染防御免疫を發揮しうることが明かとなった。この状況下でパラミオシン免疫群ではやや低いものの30

%以上の防御免疫が有為に認められ、以上の防御免疫が有為に認められ、パラミオシンがワクチン候補として使用できる可能性が示唆された。

D. 考察

中国の侵淫地における保有宿主としての家畜の重要性は数年来続けられた患者の教育および集団治療の後になおかつ約5%前後の感染率を維持していることから明らかである。家畜の内最も重要だと言われているのは水牛であるがこれ以外にブタや肉牛も問題となっている。今回の研究は家畜に対するワクチンの実用化に向けての第1歩となるものである。今後他の有力なワクチン候補分子との併用などを検討する予定である。

E. 結論

中国ブタは日本住血吸虫に感受性でありワクチンによって防御免疫を付与することが可能である。

表1

	TM	TM+SJPM	紫外線照射
動物数 (M:F)	6 (4:2)	6 (2:4)	6 (5:1)
体重 (kg)	82.2±1.5	88.3±9.8	88.3±7.5
虫体回収数 (雌雄対数)	61.3±13.6 (29.3±6.6)	40.2±3.4** (19.2±2.6)	30.0±8.0 (15.0±4.0)
減少率	-	34.5	(50.0)
虫卵数/5g	11.7±6.3	2.7±1.4	2.5±1.0

*p < 0.005

F. 研究発表

1. 論文発表

平山謙二：寄生虫感染の重症化に関与する遺伝子医学のあゆみ 191(1)124-130, 1999.

Hirayama K, Chen H, Kikuchi M, Ying T, Gu X, Liu J, Zhang S & Yuan H: HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population. Tissue antigens, 1999, 53:269-274.

Satoh M, Toma H, Sato Y, Kikuchi M, Takara M, Shiroma Y, Kiyuna S & Hirayama K: HLA-DRB1*0901 positive patients with strongyloidiasis produced high levels of specific IgG4 antibody associated with resistance to albendazole treatment. Am J Trop Med Hyg, 1999, 61(4):669-671.

Chen H, Nara T, Zeng X, Satoh M, Wu G, Kojima S, Zhang S & Hirayama K. : Vaccination of domestic pig with recombinant paramyosin against *Schistosoma japonicum* in China. *Vaccine, in press.*

2. 学会発表

佐藤正夫、張紹基、小島莊明、平山謙二、奈良武司、陳紅根、曾小軍：中国ブタを用いた組換えパラミオシンのワクチン効果 日本熱帯医学会、1999年9月、東京

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

ビルハルツ住血吸虫の実験室内維持に関する研究
分担研究者 金澤 保 産業医科大学医学部寄生虫学熱帯医学

研究要旨 ビルハルツ住血吸虫を実験室内維持する目的で昨年に引き続きBALB/cマウスを用いて維持方法を検討した。ビルハルツ住血吸虫をBALB/cマウスを用いて維持できること。安定した維持を妨げる要因の一つにセルカリアの性比が雄に優位であることを指摘することができる。貝の段階で大規模に飼育することが必要と考えられた。

A. 研究目的

住血吸虫の研究を推進するにあたり、研究材料となる住血吸虫を常時、安定して入手できるように実験環境が整備されることが必要である。ビルハルツ住血吸虫は人に感染する住血吸虫のうち最も実験室内で維持する事が困難な種として知られている。橋本イニシアティブが提唱される中、アフリカにおけるわが国の医療協力を考える際にビルハルツ住血吸虫症は主要な研究対象となる可能性がある疾患である。国内におけるビルハルツ住血吸虫症に関する研究を推進するための基礎となる寄生虫の安定供給体制を確立することを目的として本研究が計画された。

B. 研究方法

昨年度の研究に引き続き、BALB/cマウスを用いてビルハルツ住血吸虫維持を試みた。セルカリアを経皮的に感染させ、感染後20～26週目に解剖し肝門脈内に寄生している成虫を灌流法で回収するとともに肝臓から虫卵を分離し定法通り *Bulinus* に感染させ7～8週目にメタセルカリアを遊出させた。過去に得られた結果と比較検討した。

メタセルカリアの段階で雄と雌の性比が雄に優位であることが本寄生虫の安定維持を妨げる要因の一つと考え、性比を明らかにすべく単性感験実験を行った。一個の *Bulinus* にミラシジウムを一隻感染させた後、10週目にメタセルカリアを遊出させ BALB/c マウスに感染させ感染後15週目に解剖し門脈灌流法で虫体を回収した。回収された虫体については顕微鏡下で形態を観察し、雌雄の判別を行った。

(倫理面への配慮)

ここで行われた動物実験は、当大学動物実験指針に則って行われ実験開始に先立って当大学の動物実験倫理委員会の審査を受け、同委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

成虫の回収率は0.6～4.2%であった。

単性感験実験から得られた雄：雌は3：1であった。

D. 考察

昨年までに得られた研究結果に基づき、本年度もビルハルツ住血吸虫の維持を行った。昨年度と同様、本方法で維持できる事が確認された。単性感験実験からはビルハルツ住血吸虫は雄：雌の性比は約3：1であることが予想された。大規模な維持システムをもっていけば、性比の偏りに起因するビルハルツ住血吸虫維持の失敗の可能性は少なくなるのであろうが、小規模の維持体制では失敗する可能性が大きい。可能な限り多くの貝にミラシジウムを感染させる事と、可能な限り多くの貝から得られたミラシジウムを混合させて終宿主に感染させることが安定維持には必要であると考えられた。

E. 結論

BALB/c マウスを用いてビルハルツ住血吸虫を維持できる。成虫を回収を目的ならば従来使用されてきたゴールデンハムスターよりも適当な動物であると思われる。

ビルハルツ住血吸虫はセルカリアの段階で既に性比が雄優位に偏っている事が、実験室内維持を不安定にしている要因の一つである。

ビルハルツ住血吸虫の安定維持供給を図るためには貝の段階で多くの感染員を作成することが必要となる。

F. 研究発表

1. 論文発表

金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子

目でみる人獣共通寄生虫症①

日本醫事新報, 33-36, 2000

目でみる人獣共通寄生虫症②

日本醫事新報 (印刷中) 2000

目でみる人獣共通寄生虫症③

日本醫事新報 (印刷中) 2000

2. 学会発表

Hayashi M., Shimada M., Masuda

K., Habe S. and Kanazawa T.

A new attempt of maintain of

Schistosoma haematobium in a

laboratory.

第68回日本寄生虫学会大会1999年

4月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

ヒト尿サンプルを用いた日本住血吸虫症の診断法に関する研究

分担研究者 伊藤 誠 愛知医科大学寄生虫学教室

研究要旨： 血清にかわって採取が簡便な尿を用いた日本住血吸虫症の診断法の開発および実用化を目的として本研究を行った。その結果、尿中の特異抗体を、血清 ELISA の結果と比較して、特異性、感度ともに遜色なく検出する方法を確立することができた。また尿採取後窒化ソーダを加えることにより、37°C で少なくとも一ヶ月間は抗体価の低下なく保存でき、cold chain のない地域でも利用可能であることから、疫学調査に有効であることが確認された。また、新たに開発した Small-scale-multi-dot-ELISA 法により、他の吸虫症との鑑別を可能にすることができた。この方法を用いることで、タイ東部に住血吸虫症の新たな流行地が存在することが強く示唆された。

A. 研究目的

日本住血吸虫症対策にとって簡便な診断法は不可欠であり、その診断法の良否が対策を容易にも困難にもするといつて過言ではない。そこで血清にかわって採取が容易かつ安全である尿を用いた日本住血吸虫症の疫学調査のための診断法を確立し実用化を目指すことを本研究の目的とした。

B. 研究方法

中国湖南省の日本住血吸虫症患者の血清、尿を用いた。日本住血吸虫虫卵可溶性抗原 (SEA) に対する抗体は ELISA 法で検出した。また、感染寄生虫種の同定に有効な multi-dot-ELISA をさらに高感度な、また多検体処理が容易な方法に改良し、尿診断への応用を試みた。

C. 研究結果

尿を濃縮することなく尿中に日本住血吸虫抗原特異的な抗体が検出できることを明らかにした。方法も従来の ELISA 法とほぼ同じであり、血清 ELISA の結果と比較して、感度・特異性は遜色なかった。尿は採取後窒化ソーダを加えることにより、37°C で少なくとも一ヶ月は抗体価の低下なく保存できることが確認された。抗原として可溶性虫卵抗原を用いているが、安定的な抗原の供給を考えると、以前に報告されているヘモシアニン、あるいはリコンビナント抗原の使用が望まれる。入手可能なヘモシアニンについて、尿 ELISA への応用を検討した結果、加熱処理した KLH が最も適していることが分かった。

尿診断法のために新たに開発した高感度な

Small-scale-multi-dot-ELISA 法により、ELISA 法では困難であった肝吸虫症と住血吸虫症の鑑別が可能となった。

D. 考察

尿を用いた寄生虫症の診断は、採血に比べて採尿がいかに簡便であるかを考えれば、流行地における疫学調査をきわめて容易にすることがわかる。本研究により確立された日本住血吸虫症の尿診断は、流行地における対策 (治療など) の効果判定、気候の変動や人為的な原因によっておこる、新たな流行地の出現などを速やかに見つけ出すなどの調査に有効な手段になるものと期待される。また、尿診断法に抗原として加熱処理 KLH が使えるとの結果を得たこと、また採取後の測定する施設への運搬に cold chain の必要がないことは、この方法の普及をさらに容易にするものと考えられる。

本研究で得られた尿診断法の技術が、住血吸虫症のみならず、リンパ系フィラリア症、肺吸虫症などにも応用可能であることを示す結果が得られている。

E. 結論

日本住血吸虫症の流行地における疫学調査のための尿診断法を確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Itoh M, Qiu X-G, Koyama Y, Ogawa Y, Weerasooriya M V, Visanou H, Fujimaki Y & Kimura E. : Detection of circulating *Wuchereria bancrofti* antigen, filaria specific IgG and IgG4 in

chyluria cases in Japan. *Jpn J Trop Med Hyg*, 1999, 27:483-486.

2. 学会発表

Itoh M, Qiu X-G, Kimura E, Weerasooriya M V, Gunawardena N K, Fujimaki Y, Kimura E. :
Detection of endemic area of bancroftian filariasis
by ELISA using urine samples. 第 68 回日本寄
生虫学会大会 1999 年 4 月、栃木

19990467

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

刊行書籍又は雑誌名（雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名）	刊行年月日	刊行書店名	執筆者氏名
Parasitol Int, 46:31-39, Squirrel monkeys as a useful vaccine model for <i>Schistosoma japonicum</i> infection.	1997	ELSEVIER	Sato M, Nara T, Janecharut T, Furuta T, Kikuchi T, Matsumoto N, Kokaze A, Kuramochi T, Kuroda M, Hattori S, Ono F, Morishita Y, Mori S & Kojima S.
Vaccine, 15:79-84, The B cell epitope of paramyosin recognized by a protective monoclonal IgE antibody to <i>Schistosoma japonicum</i> .	1997	ELSEVIER	Nara T, Tanabe K, Mahakukijcharoen Y, Osada Y, Matsumoto N, Kita K & Kojima S.
FEMS Immunol Med Microbiol, 18:319-324, Immunoregulation and parasitic infections.	1997	ELSEVIER	Kojima S.
Int Arch Allergy Immunol, 1997, 114(suppl 1):40-44, Comparative studies on schistosomulicidal activity of mouse and rat eosinophils.	1997	KARGER	Mahakunkijcharoen Y, Osada Y, Nara T, Horie T, Takatsu K & Kojima S.
医学のあゆみ, 183(4):253-256, 住血吸虫のTh2誘導活性	1997	医学のあゆみ社	太田伸生
熱帯, 30:93-99, 中国湖南省の日本住血吸虫病調査；揚子江流域の1村落をモデルとして	1997	日本熱帯医学協会	太田伸生, 保阪幸男, 中島康男, 荘正憲, 金澤 保, 伊藤 誠, 平山謙二, 葉袋 勝, 周 達人, 陳 炎
埼玉県医学会雑誌, 31(6):909-913, 輸入感染症	1997	埼玉県医学会	平山謙二
化学療法の領域, 13(S-1):209-213, 住血吸虫症	1997	医薬ジャーナル社	小島荘明
Proc 4th Japan-Korea Parasitology seminar, 71-85, Genetic epidemiological approach to analyze human immunity in parasitic diseases.	1998	Forum Cheju-4 Organizing Committee	Hirayama K.

Cancer Let, 131:215-221, p53 gene mutations in rectal cancer associated with schistosomiasis japonica in Chinese patients.	1998	ELSEVIER	Zhang R, Takahashi S, Orita S, Yoshida A, Maruyama H, Shirai T & Ohta N.
Immunogenetics, 47:497-498, Polymorphism of the tumor necrosis factor A gene in the Melanesian and East-Asian populations.	1998	Springer- Verlag	Yoshida A, Uchida Y J, Ishii A, Leafasia JL, Zhou D, Chen Y, Tang LP, Lie CY, Qiu DC, Ohmae H & Ohta N.
Malaria Research in the Solomon Islands, Ishii A, Nihei N & Sasa M(Eds), 82-85, Analysisi of genetic polymorphism of TNF- α in humans: A comparative study in individuals in malaria-endemic and -nonendemic areas.	1998	Inter Group Corporation	Ohta N, Yoshida A, Leafasia J L, Bobogare A, Kere N, Kirimaoma S, Tang L, Chen Y, Ohmae H & Ishii A.
Topley and Wilson's Microbiology and Microbial infections (9th Edition), Cox F E G, Kreier J P & Wakelin D(Eds), 479-505, Schistosomes.	1998	Arnold	Kojima S.
Parasitol Int, 47: 211-217, Accuracy of diagnosis of urinary schistosomiasis: Comparison of parasitological and a monoclonal antibody-based dipstick method.	1998	ELSEVIER	Bosompem K M, Asigbee J, Otchere J, Haruna A, Kpo K H & Kojima S.
Parasitol Int, 47:289-300, Molecular cloning and expression of a <i>Schistosoma japonicum</i> tegumental membrane-associated antigen from Japanese strain.	1998	ELSEVIER	Chen L, Gao P, Yamashita T, Nara T, Kojima S, Sendo F & Araki Y.
Proc 9th ICOPA, 433-437, The involvement of Th1/2 cytokines in protective immunity against <i>Schistosoma japonicum</i> infection.	1998	Monduzzi Editore	Osada Y, Chen X, Mohamed RT, Shin E-H, Horie T & Kojima S.
J Infect Dis, 177: 1682-1686, Glycine-Valine dimorphism at the 86th amino acid of HLA-DRB1 influenced the prognosis of postschistosomal hepatic fibrosis.	1998	The University of Chicago Press	Hirayama K, Chen H, Kikuchi M, Ying T, Itoh M, Gu X, Zhang S & Yuan H.
Ann Trop Med & Parasitol, 92: 699-710, Soil factors influencing the distribution of <i>Oncomelania quadrasi</i> , the intermediate host of <i>Schistosoma japonicum</i> , on Bohol Island, Philippines.	1998	Carfax Publishing	Nihei N, Kanazawa T, Blas B L, Saito Y, Itagaki H, Pangilian R, Matsuda H & Yasuraoka K.
Trans Roy Soc Trop Med Hyg, 92:513-515, The use of whole blood absorbed on filter paper to detect <i>Wuchereria bancrofti</i> circulating antigen.	1998	Royal Society	Itoh M, Gunawardena N K, Qiu X-G, Weerasooriya M V & Kimura E.

Clinical Parasitology , 9(1):22-23, 日本住血吸虫病妄想の1例	1998	日本臨床寄生虫学会	丸山治彦、太田伸生
J Immunol, 63:6702-6711, Kupffer cells from <i>Schistosoma mansoni</i> -infected mice participate in the prompt type 2 differentiation of hepatic T cells in response to worm antigens.	1999	The American Association of Immunologists	Hayashi N, Matsui K, Tsutsui H, Osada Y, Mohamed RT, Nakano H, Kashiwamura S, Hyodo Y, Takeda K, Akira S, Hada T, Higashino K, Kojima S & Nakanishi K.
E Afr Med J, 33:324-329, Health Education and community participation in the control of urinary schistosomiasis in Ghana.	1999		Aryeetey ME, Aholu C, Wagatsuma Y, Bentil G, Nkrumah FK & Kojima S.
J Infect Dis, 179:1515-1522, Resolution and resurgence of <i>Schistosoma haematobium</i> -induced pathology after community-based chemotherapy in Ghana, as detected by ultrasound.	1999	The University of Chicago Press	Wagatsuma Y, Aryeetey ME, Sack DA, Morrow RH, Hatz C & Kojima S.
Tissue Ant, 53:269-274, HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population.	1999	Munksgaard	Hirayama K, Chen H, Kikuchi M, Yin T, Gu X, Liu J, Zhang S & Yuan H.
Jpn J Trop Med Hyg, 27:483-486, Detection of circulating <i>Wuchereria bancrofti</i> antigen, filaria specific IgG and IgG4 in chyluria cases in Japan.	1999	日本熱帯医学会	Itoh M, Qiu X-G, Koyama Y, Ogawa Y, Weerasooriya MV, Visanou H, Fujimaki Y & Kimura E.
Parasitol Int, 48:73-79, Immune responses against protozoal and nematodal infection in mice with underlying <i>Schistosoma mansoni</i> infection.	1999	ELSEVIER	Yoshida A, Maruyama H, Yabu Y, Amano T, Kobayakawa T & Ohta N.
Parasitol Int, 48:233-242, Cloning and molecular characterization of calpain, a calcium-activated neutral proteinase, from different strains of <i>Schistosoma japonicum</i> .	2000	ELSEVIER	Zhang R, Suzuki T, Takahashi S, Yoshida A, Kawaguchi H, Maruyama H, Yabu Y, Fu J, Shirai T & Ohta N.
Parasite Immunol, Protective mechanisms against the intestinal nematode, <i>Strongyloides venezuelensis</i> , in <i>Schistosoma japonicum</i> -infected mice.	in press.	Blackwell Scientific Publications	Maruyama H, Osada Y, Yoshida A, Futakuchi M, Kawaguchi H, Zhang R, Fu J, Shirai T, Kojima S & Ohta N.
Int Immunol, <i>Schistosoma mansoni</i> infection cancels the susceptibility to <i>Plasmodium chabaudi</i> through induction of Th1 dominant circumstances in the susceptible A/J mice.	in press.	Springer- Verlag	Yoshida A, Maruyama H, Kumagai T, Amano T, Kobayashi F, Zhang R, Himeno K & Ohta N.
Vaccine, Vaccination of domestic pig with recombinant paramyosin against <i>Schistosoma japonicum</i> in China.	in press.	ELSEVIER	Chen H, Nara T, Zeng X, Satoh M, Wu G, Kojima S, Zhang S & Hirayama K.

最新医学 54巻 別冊「感染症とその治療」、54:1620-1627、住血吸虫症	1999	最新医学社	太田伸生
医学のあゆみ 191(1):83-87, 住血吸虫症ワクチン	1999	医学のあゆみ社	小島荘明
医学のあゆみ 191(1)124-130, 寄生虫感染の重症化に關与する遺伝子	1999	医学のあゆみ社	平山謙二
日本における寄生虫学の研究6. 407-420, 住血吸虫症ワクチン	1999	目黒寄生虫館	小島荘明
日中医学14:7-8、中国の寄生虫病の現状と展望	2000	日中医学協会	太田伸生
日本醫事新報、3951:33-36、目でみる人獣共通寄生虫症1.	2000	日本醫事新報社	金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子
日本醫事新報、目でみる人獣共通寄生虫症2.	印刷中	日本醫事新報社	金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子
日本醫事新報、目でみる人獣共通寄生虫症3.	印刷中	日本醫事新報社	金澤 保、真喜屋 清、堀尾政博、沢辺京子