

图 3

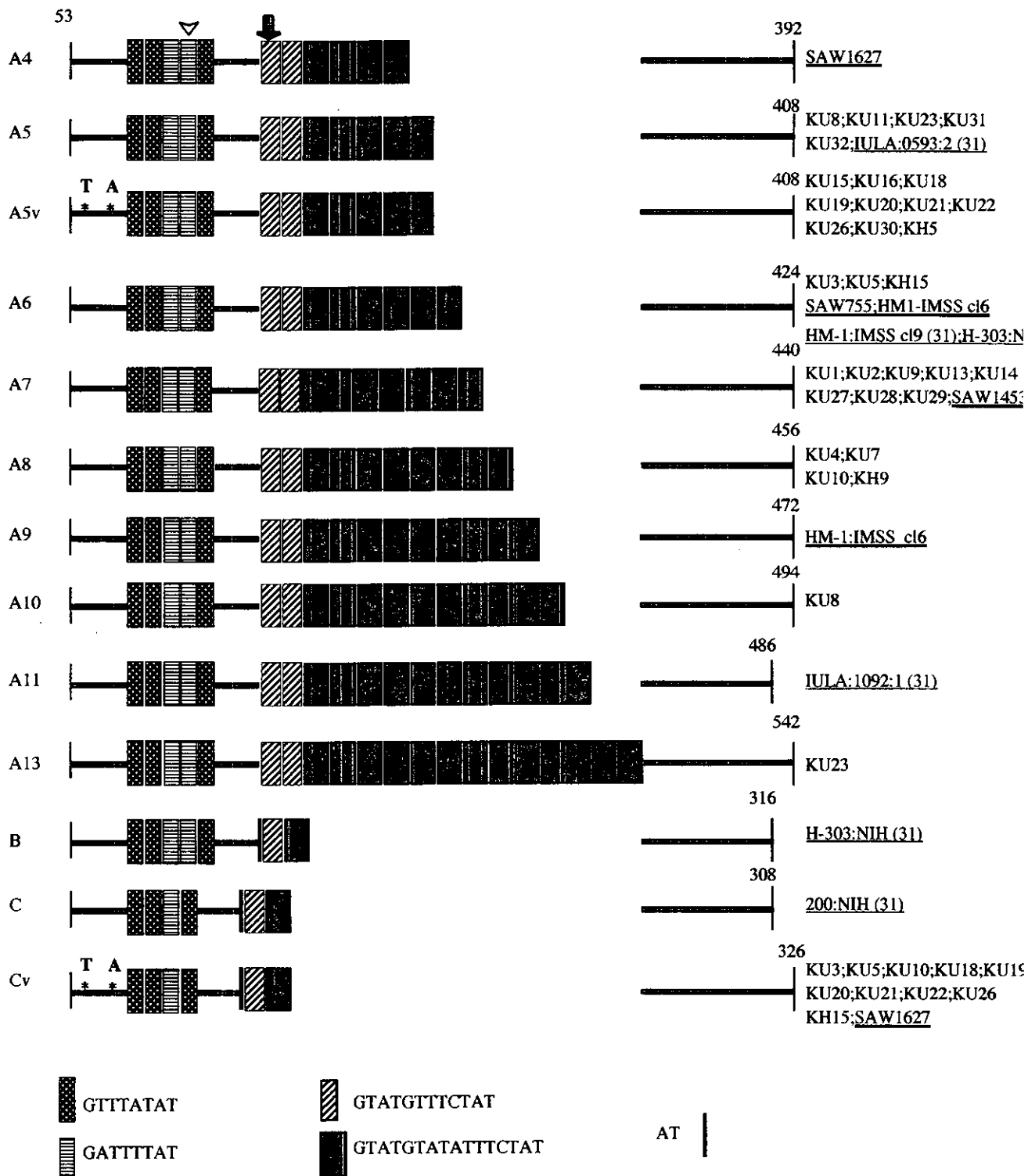
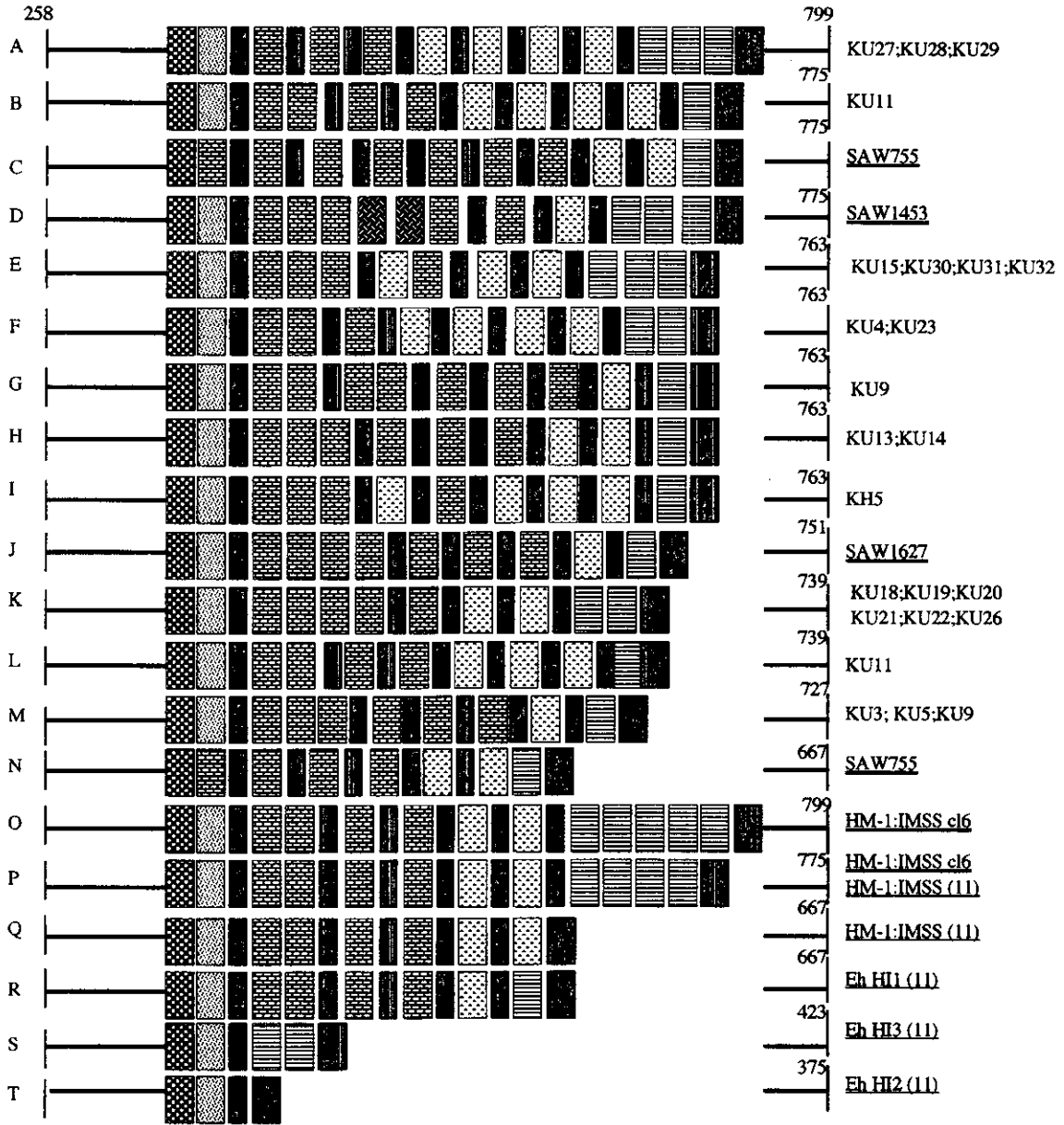










图 5



 E K A S S S D N S
 GAAAAAGCAAGTTCAAGTGATAACTCA
 E S S S S D K P
 GAATCAAGCTCAAGTGATAAACCA
 D N K P
 GATAATAAACCA

 E A S S S D K P
 GAAGCAAGTTCAAGTGATAAACCA
 GAAGCAAGCTCAAGTGATAAACCA
 E A S S S D K S
 GAAGCAAGTTCAAGTGATAAATCA
 E A S S T N K P
 GAAGCAAGCTCAACTAATAAACCA
 E A S S T S N S
 GAAGCAAGCTCAACTAGTAATTCA

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
総合研究報告書

わが国におけるアメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究

主任研究者 竹内 勤（慶応義塾大学医学部教授）

研究要旨

本研究では1980年以来わが国で増加傾向にあり、またいわゆる感染症新法施行以来、更に届け出で数が増加している赤痢アメーバ症の実態の解明を行い、その対策確立のための基礎・応用研究を行なう事を目的としている。当初の研究成果に基づいて知的障害者更正施設など、施設内アメーバ感染に焦点をあてて疫学調査を実施し、施設内感染制圧に関する指針試案作成を行い、更に対策確立に資するため、診断・治療に関連する新技術を開発しようと試みた。実態解明では異なる7施設(8グループ)の入所者延べ700名、職員延べ160名を対象として調査した結果、入所者の約28%が血清学的に陽性と判定され、職員にも陽性者が10名以上検出された。陽性率が50%以上に達する重症者施設も見いだされた。一部の施設には集団治療、衛生対策を実施したが、フォローアップ調査した結果、知的障害者更正施設3カ所、3グループでは全ての陽性者が陰転していると判定された。各1カ所の重症障害者施設、及び精神科患者療養施設では依然陽性者が検出され、追加の治療が行なわれた。この衛生対策は研究事業の他研究班と共同で感染予防ガイドラインとして公表された。アメーバ種の鑑別等に必要なる *E. dispar* の無菌培養系の作成では新しい YIGADHA-S medium を開発し、植物由来のフェレドキシンで iron-sulfur center が decompose された標品が優れた増殖促進作用を持つことを見いだしたが、更に葉肉細胞の増殖促進効果の本態と思われる分子量 5,000 の鉄蛋白を同定した。また診断法の確立のためまずモノクロナル抗体による peroxiredoxin の捕捉系を作成し、*E. histolytica* 近縁の *E. moshkovskii* の peroxiredoxin 遺伝子のクローニングを行い、遺伝子レベルでの鑑別系を作成した。*E. dispar* と *E. moshkovskii* の peroxiredoxin 遺伝子の組み替え蛋白に対するモノクロナル抗体による両種アメーバの鑑別法をも確立した。ワクチン候補としてテストした *E. histolytica* の 150-kDa、170-kDa の表面レクチンが実験的肝臓瘍形成を阻害することを見いだした。この 150-kDa レクチンに関しては遺伝子解析を行い、2つの遺伝子が存在することも明らかになった。新規化学療法剤開発のため *E. histolytica* の含硫アミノ酸代謝の検討を行い、薬理作用の標的として可能性を有する部位を明らかにした。また *E. invadens* をモデルとして嚢子形成及び脱嚢の機序の解明とそれらの阻害剤探索を *E. histolytica* の増殖阻害と共に検討した。その結果オリザリン、Jasplakinolide、PKC 阻害剤、Ca²⁺ 機能阻害剤、プロテアソーム阻害剤などが嚢子形成を阻害し、栄養型の増殖も阻害することを見いだした。サブポピュレーション同定の方法を確立し、障害者施設等より分離した 30 株の *E. histolytica* に対し、Locus 1-2 等、多形性の知られる 4 つの DNA 領域の核酸配列の決定を行い、同一の施設から得られた株は同一の遺伝子タイプを示すことを見いだした。これは同性愛者から分離された株が示す傾向と著しく異なっていた。

研究分担者

橘 裕司・東海大学医学部助教授
牧岡朝夫・東京慈恵会医科大学助教授
野崎智義・国立感染症研究所室長

A. 研究の目的

わが国においてはアメーバ感染は1970年代後半より明瞭な増加傾向を示しているが、その対策実施には困難な点が

多い。その理由としては、①ハイリスク集団が同性愛者や知的障害者など各種施設入所者であり、疫学調査が難しい、②赤痢アメーバが病原性の異なる二種の原因、すなわち *Entamoeba histolytica*、*E. dispar* に分けられたため、各々に対する臨床的対応、診断法、あるいは疫学的側面が再検討されなければならなくなった、③副作用の少ない薬剤の開発が進んでいない、等が挙げられる。特に①に関連した事項のうち施設内感染は重要で、わが国の福祉・衛生行政面で提起している問題は大きい。以上より本研究においては、①ハイリスク集団のうち諸種施設における施設内アメーバ感染の疫学調査を実施してその実態を明らかにし、制圧対策モデル化・実施、及び感染予防ガイドライン作成を行なうこと、② *E. dispar* の無菌培養系の確立等を通して両種アメーバの鑑別法を確立すること、③ *E. histolytica*、*E. dispar* のサブポピュレーションの同定法の開発を行い、迅速化を計ったうえで個々の症例への対応のプロトコール作成・疫学調査に応用すること、④アメーバ表面レクチンのワクチンとしての評価を行なうこと、⑤新規薬剤開発のため標的およびその阻害剤を探索すること、を目的としている。

しかし当初の研究によってわが国の知的障害者更正施設においてアメーバ感染が拡大している事が明らかになったため、更に調査規模を拡大し、制圧対策を具体的に実施し、かつその施設のフォローアップも行ない、対策の評価を試行する事とした。調査対象を施設内アメーバ感染に絞り込んだが、これにより実態が明らかでなかったため福祉・衛生行政面での対応策が効果的に実施されなかった諸種施設におけるアメーバ感染抑圧の途を開く事が期待できる。また本研究によって、両種アメーバの抗原・抗体レベルあるいは遺伝子レベルでの新しい同定法が種またはサブポピュレーションレベルにて可能と

なり、かつ薬剤開発に新しい指標を与えることも期待され、臨床に有意な影響を及ぼすものと思われる。

B. 研究方法及び倫理面への配慮

(1)施設内アメーバ感染の実態の把握：調査は糞便検査、ELISA、ゲル内沈降反応による血清学的検査、*E. histolytica* II kit (TechLab Inc., USA) または Triage Microparasite Panel (Biosite, USA) による抗原検査を併用して行った。これによって実態を明らかにし、感染経路の特定化を計った。一部の陽性者には施設嘱託医による集団化学療法及びその後のフォローアップを実施した。また新しく集団感染が疑われる施設がかなり多いと云う疫学的な状況に鑑み、対象となった施設の職員の協力も得て感染予防対策の立案・実施を行い、ガイドラインとして福祉・衛生行政に還元する事も行なった。

(2)アメーバの免疫学的・遺伝学的同定法の開発と応用：従来よりアメーバの同定法検討の標的としてきた peroxiredoxin とその遺伝子を対象として、まずモノクロナル抗体とサンドイッチELISAによる抗原定量系の作成を行い、更に *E. histolytica* に近縁の *E. moshkovskii* の peroxiredoxin 遺伝子のクローニングをゲノムDNAのPCR増幅後、得られた断片をプローブとしてcDNAをスクリーニングする事によって行ない、一連の解析を加えた。また *E. moshkovskii* と *E. dispar* の遺伝子を発現ベクターに組み入れ、大腸菌にて組み替え蛋白を作成した。組み替え蛋白を精製後、マウスミエローマ細胞を用いて複数のモノクロナル抗体を作成した。この一連のモノクロナル抗体の反応性を決定し、蛍光ラベル抗体を用いて共焦点レーザー顕微鏡によって局在を検討した。諸種の診断法の作成のための *E. dispar* 無菌培養系の開発では、YI-S medium を基礎として開発した YIGADHA-S medium と植物由来の増殖促進物質との組合せを詳しく検討し、最適な培養系の確立

を試みた。使用した*E. dispar*株はSAW 1734cloneAR, AS21R, AS161R, CYN0009: TPC, CYN016:TPCの5株である。植物フェレドキシンの精製はツククサなどよりMayhew(1971)の方法にて行なった。増殖促進の本態をなすと思われる物質の精製はツククサなどの葉肉細胞から、アセトン抽出、SDS及びNative電気泳動、分離用ディスク電気泳動により行なった。

(3)アメーバ表面レクチンのワクチンとしての可能性の検討：まず当初は150-kDa、170-kDaレクチンの実験的アメーバ性肝臓癌に対するワクチン効果を検索した。レクチンはアフィニティークラムにて精製し、その10 μ gをFreundのアジュバントと共にハムスターの腹腔内に三回接種し、その後免疫血清のアメーバの標的細胞付着能阻害作用、*E. histolytica*(HM-1 strain)のハムスター肝注射による腫瘍形成に対する阻害実験を行い、ワクチンとしての可能性を評価した。またレクチン遺伝子のクローニングを*E. histolytica*より試みた。アフィニティークラムにて精製した150-kDaのレクチンのN末端のアミノ酸配列を決定し、その配列に基づいてdegenerateプライマーを作成し、ゲノムDNAを標的としてPCRにて増幅した。得られた産物をプローブとしてcDNAライブラリーの検索を行ない、最長のクローンを更にサブクローニングして塩基配列を決定した。

(4)サブポピュレーション特定化の方法の開発：4種類の異なるプライマーを使用してPCRによるタイピングの方法を開発した。使用したプライマーはClarkらが報告した非翻訳領域のLocus 1-2、Locus 5-6、及びSREHP(serine-rich *E. histolytica* protein)、chitinase遺伝子に基づいて設計したものである。塩基配列はアガロースゲル上で単一のバンドを示す場合は直接シーケンスにより、また複数のバンドの場合はアガロースゲルにて分離後、精製したうえでシーケンスを行なった。

(5)新規薬剤の開発研究：この分野では動物細胞の中で初めて今回の研究で見いだされた含硫アミノ酸代謝の研究に基づく新規標的の探索、及びモデルとして*E. invadens*を使用したアメーバの嚢子形成・脱嚢の阻害剤の探索、及びそれらの化合物の*E. histolytica*の*in vitro*での増殖阻害検定を行なった。前者はL-cysteine synthase、serine acetyltransferase等の酵素の遺伝子のクローニングを行い、組み替え蛋白を作成し、阻害剤を設計すると云う方法を基本的に採用した。

倫理面への配慮

知的障害者更正施設等での調査における倫理面には特別の注意を払った。特に入所者の家族には説明を十分に行なったが、加えて看護職を含む施設職員からも同意を得てから調査を進めた。また施設の性格上、関連する地方自治体の保健所、あるいは当該施設の嘱託医にも説明を行ない協力体制を作った。調査対象施設にガイドラインや倫理委員会が存在する場合には、それらをクリアして後に調査を開始する事とした。動物実験はそれぞれが所属する施設の動物実験委員会の指針にのっとり行なわれた。今後は調査は継続すべきと考えるが、当該方面のガイドラインの整備に対応して、検査担当施設の倫理委員会の承認を得てから進めるべく準備中である。

C. 研究結果

(1)ハイリスク集団におけるアメーバ感染の実態調査

研究期間中の延べ7施設(8グループ)に対して調査を実施した。その結果延べ約700名の入所者ではELISAで28%に達する陽性率が観察された。糞便を材料とした嚢子・栄養型検出、あるいは抗原検出は血清抗体陽性者を含む延べ207名にしか実施できなかったが、18%に達する陽性率で赤痢アメーバ感染が確認された。従ってこれらの陽性者は

感染源として重要視される。臨床的な観察では、これらの陽性者の中でアメーバ症を疑わせる臨床症状を呈するものは見いだせなかった。しかし分離株を実験的に無菌化してハムスター肝に注射したところ、大きな肝臓瘍は形成され、かつアインザイムパターンや遺伝子解析でも感染している株そのものは *E. histolytica* であることは確認されている。従って今回の調査対象となった施設では *E. histolytica* の持続性感染が一般に起こっているものと推定された。

このような結果に基づいて更正施設3カ所において集団治療を行い、また一部では環境衛生対策を実施した。治療後のフォローアップでは抗原検索を含む糞便検査で全ての感染者の陰転が確認され、その後6~12ヵ月を経てからの再フォローでも陰性が確認された。しかし重症障害者施設1カ所では依然として11名の糞便検査、抗原検査陽性者が確認され、うち6名は新感染者であることが判明した。また精神科患者療養施設1カ所からは17名の検査対象者中からELISAによって9名の陽性者が検出された。職員延べ160名にも同様の検査を行ったが、10名以上の明瞭なELISA陽性者が見いだされた。

今回の研究では *E. histolytica* II kit を大幅に導入したが、信頼度、簡便性が優れているのは明らかであり、今後各施設レベルでの導入を計る価値あるものと判断された。今後の調査の展開に応じてこの方向を取り入れたい。施設内アメーバ感染制圧手段の一環としてメトロニダゾールでの集団治療を2クールにわたって行なったが、無症候性感染に対しても有効であることが確認された。また昨年度より継続調査の対象となっている施設での疫学調査・集団治療・環境衛生対策の結果に基づいて、CDCの種々のガイドラインを参考として施設内アメーバ感染予防のためのガイドラインを新興・再興感染症研究事業の他の研究班と共同で作成した。

これは今年度既に出版されている（巻末業績参照）。

(2) アメーバの免疫学的、遺伝学的な同定法の開発と応用

まず *E. histolytica* の確実な抗原定量系を開発するために、peroxiredoxin に対するモノクロナル抗体(4G6)を使用したサンドイッチELISAを作成したが、この方法は特異性は高いものの感度の点で改良を要すると判断された。ついでやはり *E. histolytica* と近縁の非病原性アメーバである *E. moshkovskii* との鑑別のため、*E. moshkovskii* の peroxiredoxin の遺伝子をクローニングして解析を行った。その結果 *E. histolytica* とアミノ酸レベルで80.9%の相同性が認められた。しかし *E. histolytica* で認められるN末端付近のシステインを多く含む配列が欠損しており、これにより遺伝子レベルでの鑑別が可能となった。またこの実験に基づいて、*E. moshkovskii*、*E. dispar* の peroxiredoxin 遺伝子を使用して組み替え蛋白を作成し、それに対する一連のモノクロナル抗体を作成して反応性を検索した。その結果EM147は *E. moshkovskii* に特異的に反応する事が判明した。ED48は *E. histolytica* を含む以上の三種のアメーバに同等に反応した。これらの抗体パネルを使用することによってアメーバの簡易な診断法の開発が促進されるものと考えられた。

アメーバの鑑別等に広く応用可能な *E. dispar* の無菌培養系の作成ではYIGADH A-S mediumを開発し、この培地においては植物細胞より分離したフェレドキシンを含む分画が *E. dispar* に対し良好な増殖促進作用を持つことを見だし、特に iron-sulfur cluster が decompose された標品が有効であることを明らかにした。更にこの研究を発展させ、これまでに検索したなかで最も優れた増殖促進作用を有していたツユクサの因子の同定を試みた結果、この因子はアセトンなどの有機溶媒、あるいは2-mercaptoethanol/SDS等で抽出でき、

SDS-PAGE等による解析では葉緑素に結合している分子量約5,000の鉄蛋白であることが明らかになった。

(3)アメーバのレクチンのワクチンとしての可能性の検討

150-kDa、170-kDaの*E. histolytica*のレクチンのワクチンとしての可能性を検索した。まずアフィニティーカラムで精製したレクチンのアメーバの標的細胞接着阻害能を確認したのちに、実験的肝膿瘍形成阻止能を調べた結果、対照と比較して約40%の阻止率を示し、さらに混在する可能性のある260-kDaレクチンを電気泳動によって除去した標品は60%以上の阻止率を示した。膿瘍の平均容積も対照と比較してそれぞれ11%、8%に低下していた。ついでアメーバのレクチン遺伝子の解析を試みた。その結果cDNAライブラリーよりクローニングされた遺伝子は1101個のアミノ酸をコードしており、予想分子量は119,512 Daであった。また精製蛋白のN末端と中間部分のアミノ酸配列に基づいて、別の遺伝子のクローニングを行い、1105個のアミノ酸をコードしている遺伝子を得た。予想分子量は120,386Daであった。二つの遺伝子の存在はサザンブロット解析によっても確認された。また150-kDaのレクチンと260-kDaレクチンは同じ部位に存在することが示唆された。

(4)サブポピュレーションの同定方法の開発と応用

Locus 1-2、Locus 5-6、SREHP、chitinaseを標的にしたPCR産物をアガロースゲル電気泳動した結果、何れの場合も一あるいは二本のバンドが、供試した株間で異なったパターンとして認識された。例えばLocus 1-2の多型性は反復配列の種類、位置などに依存していたが、わが国の30株は6種類の独立したタイプに分けられる事が判明した。この所見に基づいてわが国で男性同性愛者及び施設入所者から分離された株を調べた結果、同性愛者より分離された株は施設入所者からの株よりも明らかに高度の多型性を示した。更に施設内で

のみみられたタイプ、同性愛者のみにみられたタイプが存在する事も明らかになった。また同一の施設に関してみると、ほぼ単一のタイプのみが検出されており、おそらく同一の感染源から施設内に感染が広がった事が強く示唆された。

(5)新規薬剤の開発研究

この分野の研究は*E. histolytica*の含硫アミノ酸代謝解明による標的探索と*E. invadens*をモデルとした嚢子形成・脱嚢機構の解明、及びその阻害剤の開発を中心に行なわれた。*E. histolytica*の含硫アミノ酸代謝は動物細胞で初めて見いだされたもので、L-システイン合成酵素やセリンアセチル転移酵素、シスタチオニン合成酵素、シスタチオニンベータリアーゼなどの遺伝子のクローニングと組み替え蛋白の作成、及びそれを用いた阻害剤の検索を行なった。一方嚢子形成・脱嚢に関してはオリザリン、Jasplakinolide、PKC、カルシウム機能阻害剤とプロテアソーム阻害剤などを検討した。これらは何れも嚢子形成、栄養型虫体増殖を阻害するが、その中でもオリザリンが既に原虫疾患の治療に実験的に使用されており、今後さらに検討する価値があるものと思われる。今後はオリザリンなどの作用を中心に検討を進め、リード化合物の創製を試みる予定である。

D. 考察

本研究はいわゆる感染症新法施行以来急速に届け出で数が増加傾向にある赤痢アメーバ症のわが国での疫学的実態の解明と対策確立に資するための基礎・応用研究を目的としたものである。*E. histolytica*は以前のわれわれの研究で欧米諸国と異なり、男性同性愛者間に高率に分布している事が示されているが、今回の一連の調査で想像以上に各種施設内での感染が広がっていることが明らかになった。これらの実態はわが国の福祉・衛生行政上、アメーバ感染が無視できない問題になってい

る事を示している。

今回の研究では初年度の調査で知的障害者更正施設における感染率が高く、調査の必要性が緊急に認められたことから、施設内感染を主な調査対象として取り上げるに至った。施設によって血清学的な陽性率等の差異は認められたものの、重症者の施設では制圧対策実施後も依然として新しい感染が拡がっている事、及び精神科患者施設においても血清反応陽性者が高率に見いだされた。またこれまでに疫学調査が実施され、集団化学療法や各種環境衛生対策が実施された3カ所の知的障害者更正施設のフォローアップ調査を実施し、対策の実効性の確認を試みた。その結果アメーバ感染は制圧された事が示唆される所見が得られたが、今後更にフォローアップ調査を行う必要があるものと思われる。このような施設内感染の実態は今後のわが国の福祉・衛生行政を考える上で極めて重要であろう。今後も調査を続ける必要がある。

また施設内においてはE. histolytica感染が確かに存在するにもかかわらず、事実上殆ど全ての感染者が無症状で推移している事実も重要と思われる。施設内感染が持続性感染のまま推移している原因に関する疫学的、臨床免疫学的検索が今後必要となる。最終年度はこれまでの調査に基づいて作成した施設内アメーバ感染予防策を新興・再興感染症研究事業の他の研究班と協調してガイドラインとして作成した。今後のフォローアップ調査の結果によって評価・改編する必要があるものの、対策確立に効果的に活用される事が期待される。またE. histolytica kitの有用性に鑑み、施設の職員レベルでも確実に実施できるようにすればより一層実態把握が容易に行なえるものと思われる。今後施設の協力を得たうえで、E. histolytica kitの導入を推進したい。

E. disparの無菌培養系の作成や、種・サブポプレーション同定法の確立につ

いても新しい展開が見られた。特にE. disparの無菌培養を可能としたYIGADH A-S mediumが確立され、それに基づいてフェレドキシンの増殖促進作用あるいは植物の有する増殖促進因子が初めて具体的に同定されつつある事は重要と思われる。またサブポプレーションの分子レベルの同定法が実施され、同性愛者、施設入所者が対照的なアメーバの分布状態を示した事などは今後アメーバ感染の診断、あるいは疫学的実態解明に関して大きな進展の手がかりになるものと云える。アメーバ表面のレクチンのワクチンとしての可能性の検討も遺伝子レベルに及び、今後の発展が期待される。薬剤開発のための標的あるいは阻害剤の研究は研究期間内を通して含硫アミノ酸代謝の検討と薬剤開発の標的の探索、嚢子形成・脱嚢過程の阻害剤の開発を継続し、オリザリン等幾つかの開発の可能性を有する化合物を明らかにした。今後これらの成果に基づき、阻害剤の検索の範囲を拡大するのみならず、リード化合物の絞り込みを行なう予定である。

E. まとめ

三年間の調査研究によって、わが国の施設内アメーバ感染が当初予測した以上に拡大していることが明らかになったが、集団治療及び関連する環境衛生対策の実施によって、一部では確実に抑圧できる見通しが立ちつつある。施設内感染は今後更に規模を拡大しつつ実態を明らかにする必要があるが、加えて重症障害者施設で対策にも関わらず感染が継続していたこと、精神科患者施設にも感染が拡がっていたことは注意に値しよう。作成した感染予防ガイドラインは今後評価のうえ、種々改編される必要があるが、有効に活用される事が期待される。その他の対策確立のための基礎・応用研究も着実な進展を見せた。特にE. disparの無菌培養化、その増殖因子の特定化、サブポプレーションの同定法の確立、及び施

設内感染は単一の株によっていると云う所見、ワクチン・薬剤開発の成果に関しては今後有意義な発展が期し得るものと思われる。

F. 健康危険情報

施設内感染としてのアメーバ症は衛生・福祉行政上注意を払うべき存在である事はすでに明確になったといえる。今後の調査が対象を精神科患者施設などにも拡大しつつあるところ、その動向を常に念頭に置くべきであろう。

別添5 研究成果の刊行に関する一覧表 (1999~2001年度)

(1999年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
竹内 勤	赤痢アメーバ症	杉本恒明、小俣政男	内科学	朝倉書店	東京	1999	383~385
竹内 勤	赤痢アメーバ症	多賀須幸男、尾形悦郎	今日の治療指針	医学書院	東京	1999	202~203
竹内 勤	赤痢アメーバ	黒川 清、松澤佑次	内科学	文光堂	東京	1999	63
竹内 勤	アメーバ赤痢	山崎修道、井上栄、大久保一郎 神谷斉、倉田毅、小池謙一郎 竹内勤、千葉峻三、箕輪眞澄	感染症予防必携	日本公衆衛生協会	東京	1999	234~235

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nozaki T, Asai T, Sanchez LB, Kobayashi S, Nakazawa M & Takeuchi T	Characterization of the gene encoding serine acetyltransferase, a regulatory enzyme of cysteine biosynthesis from the protist parasite <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>Entamoeba dispar</u> : Regulation and possible function of the cysteine biosynthetic pathway in <u>Entamoeba</u>	J Biol Chem	274	32445 ~32452	1999
Tachibana H, Cheng X-J, Watanabe K, Takekoshi M, Maeda F, Aotsuka S, Kaneda Y, Takeuchi T & Ihara S	Preparation of recombinant human monoclonal antibody Fab fragments specific for <u>Entamoeba histolytica</u>	Clin Diag Lab Immunol	6	383~387	1999
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobaayshi S & Takeuchi T	DNA polymerase activity in encysting <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	85	604~606	1999
Tachibana H & Cheng X-J	<u>Entamoeba dispar</u> : Cloning and characterization of peroxiredoxin genes	Exp Parasitol	94	51~55	2000

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Appearance of a stage-specific immunodominant glycoprotein in encysting <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	86	81~85	2000
Nozaki T, Tokoro M, Imada M, Saito Y, Abe Y, Shigeta Y & Takeuchi T	Cloning and biochemical characterization of genes encoding two isozymes of cysteine synthase from <u>Entamoeba dispar</u>	Mol Biochem Parasitol	107	129~133	2000
Tachibana H, Kobayashi S, Nagakura K, Kaneda Y & Takeuchi T	Asymptomatic cyst passers of <u>Entamoeba histolytica</u> but not <u>Entamoeba dispar</u> in institutions for the mentally retarded in Japan	Parasitol Int	49	31~35	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of dinitroaniline herbicides on the growth of <u>Entamoeba histolytica</u>	J Parasitol	86	272~280	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of cytochalasin D on the growth, encystation, and multinucleation of <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	86	599~602	2000
Tachibana H Cheng X-J, Kobayashi S Fujita Y & Udono T	<u>Entamoeba dispar</u> , but not <u>E. histolytica</u> , detected in a colony of chimpanzees in Japan	Parasitol Res	86	537~541	2000
小林正規、竹内 勤	微生物(感染症)検査;赤痢アメーバ	検査と技術	27 (増刊)	902~905	1999
竹内 勤	性感染症の治療学的展望;赤痢アメーバ	化学療法領域	15(S-1)	197~291	1999
竹内 勤	感染症の診断・治療のガイドライン:アメーバ赤痢	日本医師会雑誌	122 (臨時増刊)	84~87	1999
田辺将信、小林正規、 竹内 勤	赤痢アメーバ	日本臨床	増刊号	241~244	1999

(2000年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
竹内 勤	赤痢アメーバ抗体	黒川清、春日雅人、北村聖	臨床検査データブック	医学書院	東京	2000	442~443
竹内 勤	血中赤痢アメーバ抗体価 (間接蛍光抗体法)	和田攻、大久保直行、永田直一、 矢崎龍雄	臨床検査ガイド	文光堂	東京	2000	898~902

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kobayashi S, Imai E, Fujiwara T, Tachibana H & Takeuchi T	Cultivation of <u>Entamoeba dispar</u> : Growth promoting effect of ferredoxin	Arch Med Res	35	209~ 210	2000
Dvorak J A, Kobayashi S, Abe K, Fujiwara T, Takeuchi T & Nagao E	The application of the atomic force microscope to studies of medically important protozoan parasites	J Electron Microscopy	49	429~ 435	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of dinitroaniline herbicides on the growth of <u>Entamoeba histolytica</u>	J Parasitol	86	607~ 610	2000
Tachibana H, Kobayashi S, Nagakura K, Kaneda Y & Takeuchi T	Asymptomatic cyst passer of <u>Entamoeba histolytica</u> but not <u>Entamoeba dispar</u> in institutions for the mentally retarded in Japan	Parasitol Int	49	31~35	2001
Cheng X-J & Tachibana H	Molecular cloning and characterization of peroxiredoxin from <u>Entamoeba moshkovskii</u>	Arch Med Res	31	s65~ s66	2000
Cheng X-J, Watanabe K, Ihara S, Takekoshi M & Tachibana	Bacterial expression of human monoclonal antibody that inhibits in vitro adherence of <u>Entamoeba histolytica</u> trophozoites	Arch Med Res	31	s311~ s312	2000

Tachibana H, Cheng X-J, Kobayashi S, Fujita Y & Uono T	<u>Entamoeba dispar</u> but not <u>E. histolytica</u> , detected in a colony of chimpanzees in Japan	Parasitol Res	86	537~541	2000
Cheng X-J, Ihara S, Takekoshi M & Tachibana H	<u>Entamoeba histolytica</u> : bacterial expression of a human monoclonal antibody which inhibits <u>in vitro</u> adherence of trophozoites	Exp Parasitol	96	52~56	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Involvement of signaling through protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase in the encystation of <u>Entamoeba invadens</u>	Arch Med Res	31	s185~s186	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Growth inhibition and actin aggregate formation of <u>Entamoeba histolytica</u> by jasplakinolide	Arch Med Res	31	s145~s146	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	<u>Entamoeba invadens</u> : Protein kinase C inhibitors block the growth and encystation	Exp Parasitol	95	288~290	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of antitubulin drug oryzalin on the encystation of <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	86	625~629	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of cytochalasin D on the growth, encystation and multinucleation of <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	86	599~602	2000
Saito-Nakano Y, Yasuda T, Shigeta Y, Nakazawa M, Takeuchi T & Nozaki T.	Identification and characterization of Rab5 homologue in <u>Entamoeba histolytica</u>	Arch Med Res	31	s155~s156	2000

Nozaki T, Saito-Nakano Y, Tokoro M & Takeuchi T	Characterization of a gene encoding cystathionine γ -synthase involved in methionine biosynthesis from <u>Entamoeba</u>	Arch Med Res	31	s69~ s70	2000
Nozaki T, Tokoro M, Imada M, Saito Y, Abe Shigeta Y & Takeuchi T	Cloning and biochemical characterization of gene encoding two isozymes of cysteine synthase from <u>Entamoeba dispar</u>	Mol Biochem Parasitol	107	129~ 133	2000
Pillai DR, Kobayashi S, Takeuchi T & Kain KK	<u>Entamoeba dispar</u> galactose/N-acetyl-D-galactosamine lectin: Evidence for differential gene expression and conformational regulation	Arch Med Res	31	s234~ s236	2000
Nozaki T	Current problems of amebiasis in Japan and recent advances in amebiasis research	Jpn J Infect Dis	53	229~ 237	2000
小林正規、所 正治、竹内 勤	病原体別に見た迅速検査；赤痢アメーバ	臨床と微生物	27 (増)	152~ 155	2000
野崎智義	赤痢アメーバの病原性因子の分子論的理解	現代医療	32 (増)	1280~ 1284	2000
竹内 勤	肝寄生虫症の疫学・分子医学	現代医療	32 (増)	2849~ 2854	2000
竹内 勤	性感染症と寄生虫疾患	Biomed Perspect	9	73~ 77	2000

(2001年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編纂者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
竹内 勤 小林正規 今井栄子	寄生虫の院内(施設内)感染対策	小林寛伊 吉倉 廣 荒川宣親	エビデンスに基づいた 感染制御	メジカルフレンド社	東京	2002	141~148
竹内 勤	原虫・寄生虫感染症	永武 毅 小林初子	エクセルナース (感染症編)	メジカルビュー社	東京	2002	80~88
竹内 勤	原虫・寄生虫	岩本愛吉	看護のための最新医学講座 第10巻、微生物と感染症	中山書店	東京	2001	12~25
竹内 勤	血中赤痢アメーバ抗体価 (間接蛍光抗体法)		臨床検査ガイド	文光堂	東京	2001	898~902
竹内 勤	消化器・生殖器・泌尿器寄生の原虫症	多賀須幸男、尾形悦郎 、山口徹、北原光夫	今日の治療指針、2001	医学書院	東京	2001	199~200

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hamano S, Horio M, Miura S, Higo H, Iihoshi N, Noda K, Tada I & Takeuchi T	Detection of keinetoplast DNA of <u>Trypanosoma cruzi</u> from dried feces of triatomine bugs by PCR	Parasitol Int	50	135~ 138	2001
Fukao T, Yamada T, Tanabe M, Terauchi Y, Ota T, Takayama T, Asano T, Takeu- chi T, Kadowaki T, Hata J & Koyasu S	Selective loss of gastro- intestinal mast cells and impaired immunity in PI3K -deficient mice	Nature Immunol	3	295~ 304	2002
Cheng X-J, Hughes MA, Huston CD, Lof- tus B, Gilchrist CA, Lockhart LA, Ghosh S, Miller- Sims V, Mann B, Petri, WA Jr & Tachibana H	Intermediate subunit of the Gal/GalNAc lectin of <u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u> is a member of a gene family containing multi- ple CXXC sequence motifs	Infect Immun	69	5892~ 5898	2001

Tanyuksel M, Tachibana H & Petri WA Jr	Amebiasis, an emerging disease	Emerging Infections		197~212	2001
Tachibana H, Cheng X-J, Kobayashi S, Matsubayashi N, Gotoh S & Matsubayashi K	High prevalence of infection with <u>Entamoeba dispar</u> , but not <u>Entamoeba histolytica</u> , in captive macaques	Parasitol Res	87	14~17	2001
Cheng X-J & Tachibana H	Protection of hamsters from amebic liver abscess formation with the 150- and 170-kDa surface antigens of <u>Entamoeba histolytica</u>	Parasitol Res	87	126~130	2001
Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S, & Takeuchi T	Possible role of calcium ion, calcium channel and calmodulin in excystation and metacystic development of <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res		in press	2002
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of proteasome inhibitors on the growth, encystation, and excystation of <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res		in press	2002
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Inhibition of excystation and metacystic development of <u>Entamoeba invadens</u> by the dinitroaniline herbicide, oryzalin	J Parasitol		in press	2002
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of jasplakinolide on the growth, encystation and actin cytoskeleton of <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>Entamoeba invadens</u>	J Parasitol	87	399~405	2001
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Inhibition of encystation of <u>Entamoeba invadens</u> by wortmannin	Parasitol Res	87	371~375	2001

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	<u>Entamoeba invadens</u> : Enhancement of excystation and metacystic development by cytochalasin D	Exp Parasitol	98	145~152	2001
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of calcium antagonists, calcium channel blockers and calmodulin inhibitors on the growth and encystation of <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>E. invadens</u>	Parasitol Res	87	833~837	2001
Sanuki J, Tokoro M, Nozaki T, Okuzawa E, Kobayashi S & Asai T	Purification and characterization of a major soluble 40-kDa antigen from <u>Entamoeba histolytica</u> and its use for serodiagnosis of chronic amebiasis	Parasitol Int	50	73~80	2001
Nozaki T, Shigeta Y, Saito-Nakano Y, Imada M & Kruger WD	Characterization of transsulfurylation of cysteine biosynthetic pathway in the protozoan haemoflagellate, <u>Trypanosoma cruzi</u> : Isolation and characterization of cystathionine acetyltransferase from trypanosoma	J Biol Chem	276	6516~6523	2001
Saito-Nakano Y, Nakazawa M, Shigeta Y, Takeuchi T & Nozaki T	Identification and characterization of genes encoding novel Rab proteins from <u>Entamoeba histolytica</u>	Mol Biochem Parasitol	116	219~222	2001
竹内 勤、小林正規、今井栄子	施設内感染の問題、特に寄生虫感染について	薬理と治療	29	684~687	2001
野崎智義、竹内 勤	寄生性原虫における硫黄含有アミノ酸合成・分解経路 - 新しい抗原虫感染症薬剤の開発標的	蛋白質核酸酵素	47	21~29	2002

20010727

以降は雑誌/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」をご参照ください。