

た1件はL1B13およびGAGでヒト型と判定されたが、CWUでは成績を得ることができなかった。

Cry-1の2件およびCry-2の1件はDNA量が少なく他の3つの試験を行うことができなかった。

18S rRNAの配列のShu領域(Shu)ではCry-1(ウシ型)とCry-2(ヒト型)であった2件について行ったところ、共にShu-1に型別された。

ウシ由来のクリプトスポリジウム17件ではba領域の型別では15件がCry-1で、相同性は100%であった。1例がCry-3で、この型別に属するものは今回行った内で唯一で、残り1例はDNA量が少なく配列を決定できなかった。L1B13による型別では12例がG2の動物型で、これらはすべてCry-1であった。Cry-1の1例はL1B13でヒト型と動物型の両方が見られた。他の3件はPCR陰性であった。すなわち、CWUおよびGAGによる型別で検査できたものは全て動物型であった。

なお、ba領域の型別でCry-3に属したものはL1B13, CWU, GAGによる検査ではいずれもPCRでDNAを増幅することができなかった。

Ba領域による型別でCry-1であったもので、Shu領域の型別でShu-1が3件、Shu-3が2件で、ba領域の型別でCry-3とPCR(+)であったものがShu-5に属し、Shu-5は*C. muris*であった。

ブタ由来のクリプトスポリジウム1件はba領域の型別からCry-1に属するものであったが、そのほかの試験はDNA量が少なく行うことができなかった。

イヌ由来のクリプトスポリジウム1件はba領域ではPCR陽性であったが、配列を決定できなかったものの、L1B13およびCWUでヒト型と判定された。しかし、GAGではPCRによってDNAが増幅されたが、配列を決定することができなかった。

ネコ由来のクリプトスポリジウム2件では共にba領域ではPCR陽性であったが、配列を決定できなかったものの、L1B13でヒト型とCWUで動物型と判定された。しかし、GAGによる型別を行うことができなかった。

Shuの型別ではba領域でPCR陽性でCryの型別が出来なかったものはShu-4であった。

ネズミ由来のクリプトスポリジウム1件はba領域の型別でCry-4に属し、L1B13でヒト型と判定されCWUでは陰性であり、GAGによる型別は行うことができなかった。他の1件はba領域のPCRで陽性であったが、配列を決定できなく、L1B13およびCWUで陰性であったが、CWUで動物型と決められた。Shuの型別では18S rRNAのCryの型別でCry-4はShu-2、PCR(+)でCryの型別が出来なかったものはShu-4であった。

以上のことから、18S rRNAのba領域の遺伝子配列による型別では24件のクリプトスポリジウムのうち20件(ヒト4件、ウシ15件、ブタ1件)がCry-1に属するもので、Cry-2はヒトで2件、Cry-3はウシ1件、Cry-4はネズミ1件から検出されたにすぎなかった。

しかし、Shu 領域の遺伝子配列による型別では 6 つに分けられ、*C. paruvam* と *C. muris* の区別も行えた。

d. 研究考察

ヒトおよびウシ、ブタ、イヌ、ネコからのクリプトスポリジウムについて 18S rRNA の配列を決定したところ、18S rRNA の ba 領域の遺伝子配列による型別では 24 件のクリプトスポリジウムのうち 20 件(ヒト 4 件、ウシ 15 件、ブタ 1 件)が Cry-1 に属し、Cry-2 はヒトで 2 件、Cry-3 はウシ 1 件、Cry-4 はネズミ 1 件から検出されたにすぎなかった。Cry-1 はウシ由来のクリプトスポリジウムと推測されるものの、ヒトおよびブタからも検出されており、これらはウシのクリプトスポリジウムに感染したと推測されるが、今後他の部分についても配列を調べなければならないと考えている。

Cry-2 はヒトのみが属し、1 件では遺伝子型別の L1B13, GAG でヒト型を示したことから、ヒト特異的な塩基配列である可能性が考えられた。Cry-1 と Cry-2 の塩基配列の異なる部分を図 3. 中で囲って示したが、わずかな違いであり、例数を増やし、この部分がヒト特異的な配列であるかを確認する必要がある。

Shu 領域の遺伝子配列による型別では *C. paruvam* と *C. muris* の区別が可能であり、ウシの型別では ba 領域では 1 つであったが、Shu 領域では 3 つに分けられ、型別に優れていた。しかし、ヒト由来のものでは ba 領域では 2 つで、Shu 領域では 1 つの型で、ヒトでは劣っていた。このことから遺伝子型別は両方行うのが望ましいと考えられた。

Cry-3 は *C. muris* [L19069] と近縁であったため *C. muris* に特有の配列と推察され、Cry-4 はネズミが属したためネズミ特有の塩基配列ということも推測できるが、Cry-3、Cry-4 共に例数が少ないため今後例数を増やし明らかにしたいと考えている。

L1B13, CWU, GAG による型別ではヒトおよびウシのクリプトスポリジウムではほぼ一致した結果が得られ、クリプトスポリジウムの由来がヒトであるかあるいは動物であるかの判定にはどれか一つを用いることにより、推定が可能と考えられた。

ブタ、イヌ、ネコおよびネズミ由来のクリプトスポリジウムでは 18S rRNA 領域および GAG の増幅が弱いことから、プライマー部分における遺伝子配列がプライマーと少し異なっている可能性が考えられ、今後これらの動物についてはプライマー部分の配列を調べ、異なっておればプライマーを変える必要があるものと考えている。

イヌ、ネコおよびネズミ(2 件中 1 件)のクリプトスポリジウムは L1B13 でヒト型を示した。しかし CWU ではイヌはヒト型であったものの、ネコ 2 件は動物型を示した(ネズミは CWU の PCR で陰性)が今後この検査法による型別の不一致の要因を解明しなければならない。

従って、ヒト由来のクリプトスポリジウムにはヒトからのものと、動物からのものが存在すると推測される。ウシでは殆どウシとの間でクリプトスポリジウムの伝播が行われていると考えられる。また、イヌ、ネコではヒトから感染したことが示唆された。

表 1. ヒトおよび各種動物から得られたクリプトスポリジウムの遺伝子型

検体		ba* ¹	18Shu* ²	遺伝子型別		
				LIB13* ³	CWU* ⁴	GAG* ⁵
ヒト 01/98:Sa	<i>C. parvum</i>	Cry-2	Shu-1	G1>G2	PCR+	H2
ヒト 02/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	NT	NT	NT
ヒト 03/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	NT	NT	NT
ヒト 01/99	<i>C. parvum</i>	PCR+	NT	G2	—	PCR+
ヒト 02/99	<i>C. parvum</i>	Cry-2	NT	NT	NT	NT
ヒト 01/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	PCR+	G2	G2	C2
ヒト 02/00:Ma	<i>C. parvum</i>	Cry-1	Shu-1	G2	G2	C2
ウシ 01/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	G2	G2	PCR+
ウシ 02/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	—	G2	G2	C1
ウシ 03/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	—	G2	—	C1
ウシ 04/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	Shu-3	G2	G2	C1
ウシ 05/98	<i>C. muris</i>	Cry-3	Shu-5	—	—	—
ウシ 06/98	<i>C. parvum</i>	Cry-1	PCR+	G2	G2	C1
ウシ 01/99	<i>C. parvum</i>	Cry-1	Shu-3	G2	G2	C1
ウシ 02/99	<i>C. parvum</i>	Cry-1	PCR+	G2	G2	C1
ウシ 03/99	<i>C. muris</i>	PCR+	Shu-5	—	—	—
ウシ 01/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	G2	G2	C1
ウシ 02/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	Shu-1	G2	G2	C1
ウシ 03/00:Na	<i>C. parvum</i>	Cry-1	Shu-1	G1<G2	G2	C1
ウシ 04/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	G2	G2	C1
ウシ 05/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	—	G2	—	C1
ウシ 06/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	—	—	—	C1
ウシ 07/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	Shu-1	G2	G2	C1
ウシ 09/00	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	NT	NT	NT
ブタ 01/98:A	<i>C. parvum</i>	Cry-1	NT	NT	NT	NT
イヌ 01/00	<i>C. parvum</i>	PCR+	NT	G1	G1	PCR+
ネコ 01/00	<i>C. parvum</i>	PCR+	NT	G1	G2	PCR+
ネコ 01/99	<i>C. parvum</i>	PCR+	Shu-4	G1	G2	—
ネズミ 01/98	<i>C. parvum</i>	Cry-4	Shu-2	G1	—	PCR+
ネズミ 01/99	<i>C. muris</i>	PCR+	Shu-6	—	—	C1

NT：未検査

PCR+：PCRは陽性であったが、塩基配列の決定または制限酵素処理が行えなかった

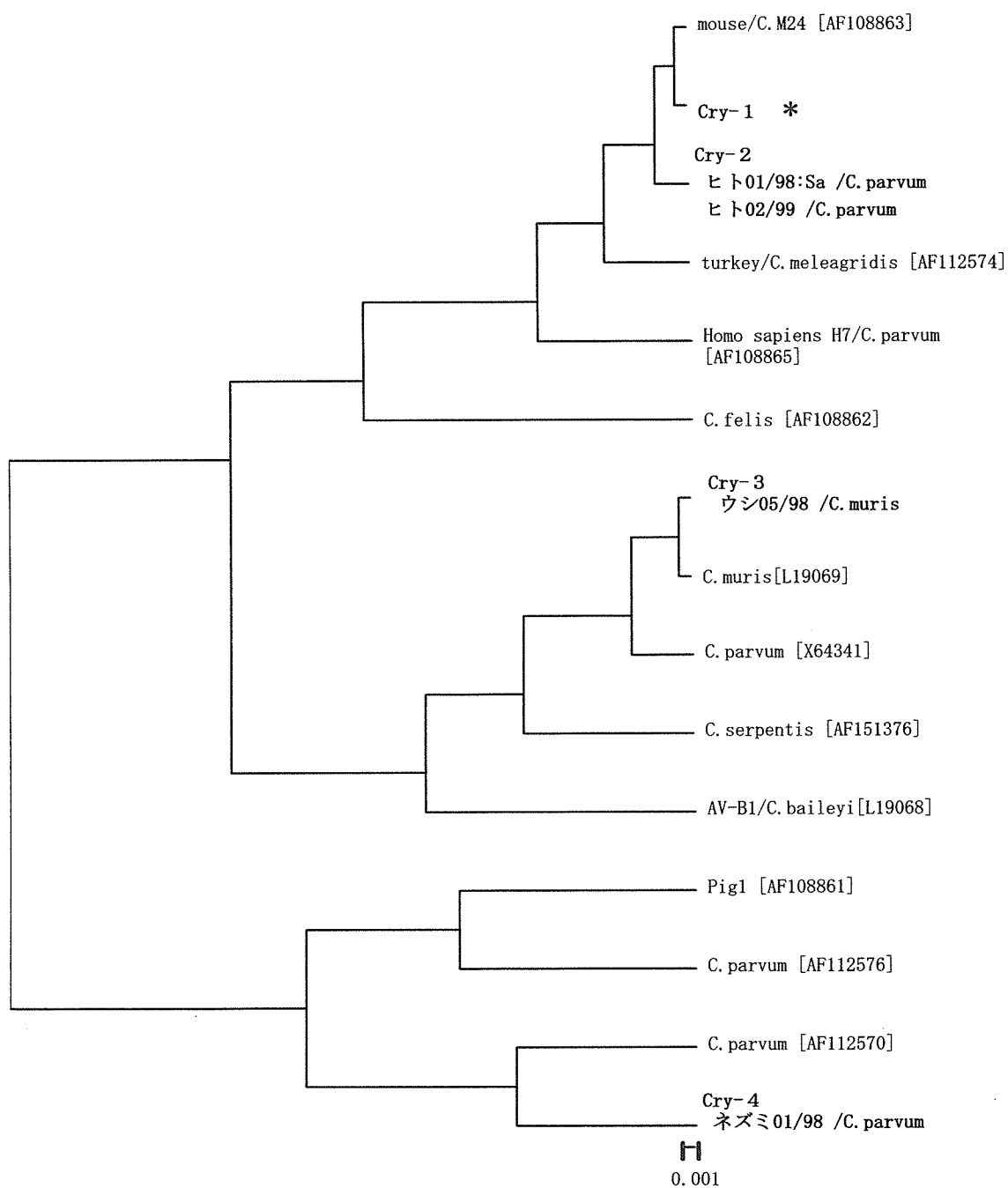
*1 図 1. ヒトおよび各種動物から得られたクリプトスポリジウムの 18S rRNA 領域 (ba+82/-620 プライマー) 系統樹による型別

*2 図 2. ヒトおよび各種動物から得られたクリプトスポリジウムの 18S rRNA 領域 (18Shu+1130/18Shu-1729 プライマー) 系統樹による型別

*3 G1 ヒト型、G2 動物型

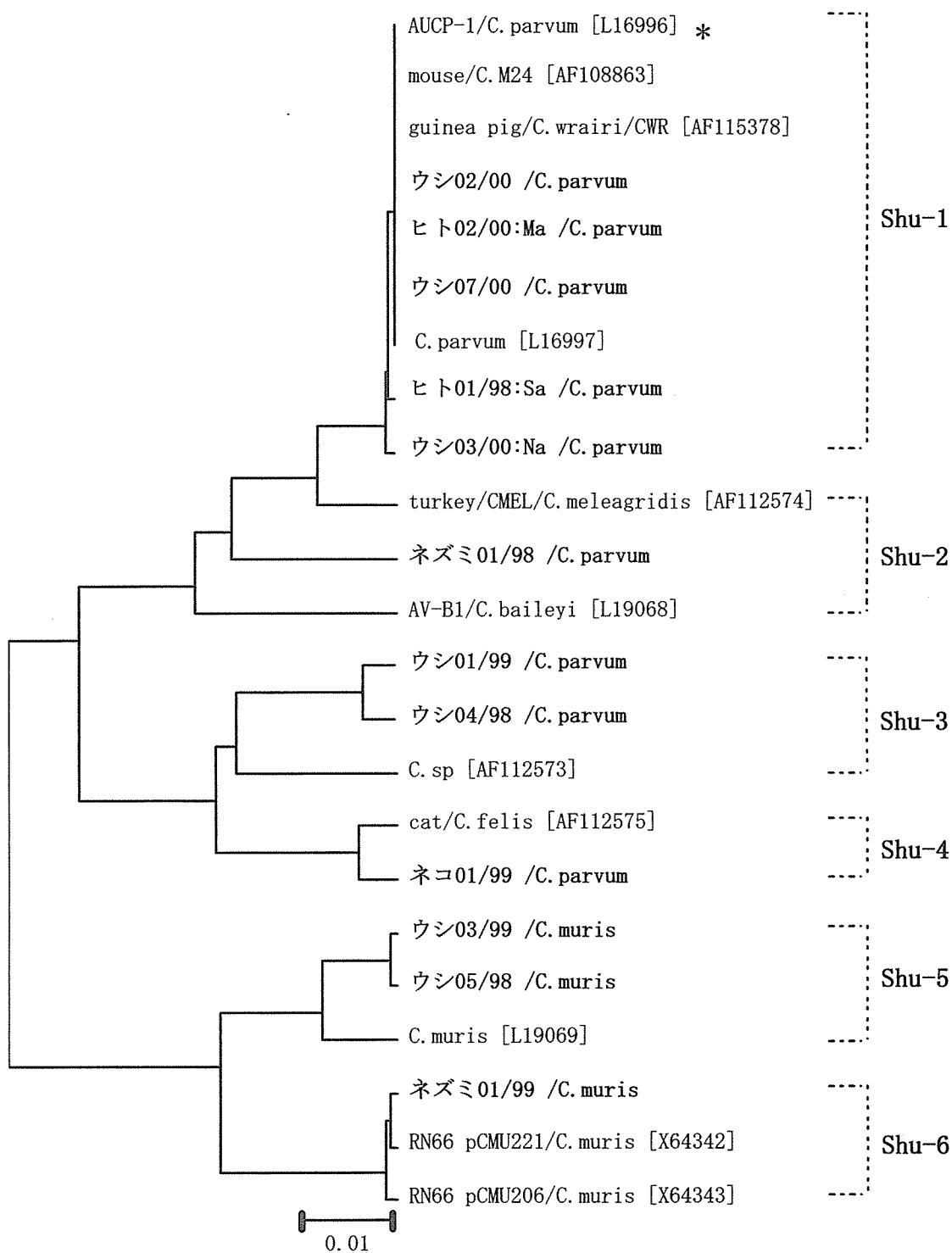
*4 G1 ヒト型、G2 動物型

*5 H2 ヒト型、C1, C2 動物型



* : ヒト 01/00/C.parvum, ヒト 02/00:Ma/C.parvum, ヒト 02/98/C.parvum, ヒト 03/98/C.parvum,
 ウシ 01/98/C.parvum, ウシ 02/98/C.parvum, ウシ 03/98/C.parvum, ウシ 04/98/C.parvum,
 ウシ 06/98/C.parvum, ウシ 01/99/C.parvum, ウシ 02/99/C.parvum, ウシ 01/00/C.parvum,
 ウシ 02/00/C.parvum, ウシ 03/00:Na/C.parvum, ウシ 04/00/C.parvum, ウシ 05/00/C.parvum,
 ウシ 06/00/C.parvum, ウシ 07/00/C.parvum, ウシ 09/00/C.parvum, ブタ 01/98/C.parvum

図 1. 国内のヒトおよび各種動物から分離されたクリプトスポリジウムの 18S rRNA 領域 (ba+84/ba-620 プライマー) 系統樹



* : cattle/*C. parvum*[AF108864], ferret/CPF/*C. parvum*[AF112572], GCH1/*C. parvum*[AF161859], rhesus monkey/CPRM1/*C. parvum*[AF112569], Homo sapiens H7/*C. parvum*[AF108865], IOWA/*C. parvum*[AF164102], MT/*C. parvum*[AF161856], UPP/*C. parvum*[AF161857]

図2. 国内のヒトおよび各種動物から分離されたクリプトスポリジウムの18S rRNA領域 (18Shu+1130/18Shu-1729 プライマー)系統樹

図3. ヒトおよび各種動物から分離されたクリプトスポリジウムの18S rRNA領域
(ba+84/ba-620プライマー増幅領域, 110—589)塩基配列

Cry-1*	1	TATAGTTTACTTGATAAT-CTT-T-—ACTTACATGGATAACCGTGGTA	44
Cry-2*	1-...-...-.....	44
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	1-...-...-CAAA..-.....	43
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	1-...-...-.....	44
mouse /C. M24[AF108863]	1-...-...-.....	44
turkey/C. meleagridis[AF112574]	1-...-...-.....	44
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	1-...-...-T-...-.....	45
C. felis[AF108862]	1-...-...-TT-...-.....	45
C. muris [L19069]	1-...-...-CAAA..-G.....	43
C. parvum[X64341]	1-...-...-CAAA..-.....	43
C. serpentis[AF151376]	1-...-...-CAAA..-.....	43
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	1-...-...-C..-...-...-.....	43
Pig1 [AF108861]	1-...-...-.....	44
C. parvum[AF112576]	1-...-...-.....	44
C. parvum[AF112570]	1-...-...-.....	44
Cry-1	45	ATTCTAGAGCTAATACATGC-GAAA-A-A-—ACT—CG-ACT-TT-A-	81
Cry-2	45-...-...-.....-.....-.....-.....	81
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	44-...-...-...-...-...-C—CA..-.....	77
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	45-...-...-...-...-...-T-...-G-...-C-CT-...-...-T-	79
mouse /C. M24[AF108863]	45-...-...-...-...-...-...-...-...-TG-	81
turkey/C. meleagridis[AF112574]	45-...-...-...-...-...-C-CT-...-...-A-	81
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	46-...-...-...-...-...-AA-...-CT-...-...-TT	81
C. felis[AF108862]	46-...-...-...-...-...-G...-...-G-...-CCC-T-...-...-T-	80
C. muris [L19069]	44-...-...-...-...-...-C—CA..-.....	77
C. parvum[X64341]	44-...-...-...-...-...-C—CA..-.....	77
C. serpentis[AF151376]	44-...-...-...-...-...-AGG.C-...-...-TT-	80
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	44-...-...-...-...-...-AG-...-CC-...-...-TC-...	79
Pig1 [AF108861]	45-...-...-...-...-...-AAA-...-C-C-TA...-...-T-	79
C. parvum[AF112576]	45-...-...-...-...-...-AAA-...-C-CT-...-...-T-	79
C. parvum[AF112570]	45-...-...-...-...-...-C...-AG-...-C-CT-...-...-T-	80

Cry-1	82	---T-G-GA-AGGGTTGTATTTATTAGATAAAGAACCAA-T--A--TAAT	120
Cry-2	82	-----	120
Cry-3: ウシ 05/98/C. muris	78	--TCGGG. TGAGCT-----	119
Cry-4: ネズミ 01/98/C. parvum	80	-TT. . . . A. -T. . . .	120
mouse /C. M24 [AF108863]	82	-----	120
turkey/C. meleagridis [AF112574]	82	----- A.	120
Homo sapiens H7/C. parvum [AF108865]	82	A-----	121
C. felis [AF108862]	81	TA----- A. . . . C.	118
C. muris [L19069]	78	--TCGGG. TGAGCT-----	119
C. parvum [X64341]	78	--T. GCG. TGAGCT-----	119
C. serpentis [AF151376]	81	----- -T-TT.	119
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	80	--TC----- -ACTC--T-	119
Pig1 [AF108861]	80	TA----- A. A	119
C. parvum [AF112576]	80	-TT. . . . A.	117
C. parvum [AF112570]	81	T----- A. -T--T.	119

Cry-1	121	-----TGGTGAC-TCATAATAACTTTACGGATCAC- A-T -----TAA	154
Cry-2	121	----- A.	154
Cry-3: ウシ 05/98/C. muris	120	----- -AT. G. - TCTC--TG--	155
Cry-4: ネズミ 01/98/C. parvum	121	----- -AT. --TTT--.	154
mouse /C. M24 [AF108863]	121	-----	154
turkey/C. meleagridis [AF112574]	121	----- A. - -T-----	154
Homo sapiens H7/C. parvum [AF108865]	122	----- A. --T-----	155
C. felis [AF108862]	119	TTTTTTT. A. - -AATT--.	162
C. muris [L19069]	120	----- -AT. G. - TCTC--TG--	155
C. parvum [X64341]	120	----- -AT. G. - TCTC--TG--	155
C. serpentis [AF151376]	120	----- -AT. G. - TCTC--TG--	155
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	120	----- -T-----	152
Pig1 [AF108861]	120	TT----- -AT. --TTTT. . . .	157
C. parvum [AF112576]	118	TTT----- -AT. --TTT--.	154
C. parvum [AF112570]	120	T-----	153

Cry-1	155 A——TGTGACATATCATT-CAAGTTTCTGACCTATCAGCTTTAGACGG	198
Cry-2	155 . —— -	198
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	156 . —— . . C. -	199
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	155 . —— -	198
mouse /C. M24[AF108863]	155 . —— -	198
turkey/C. meleagris[AF112574]	155 . —— -	198
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	156 . —— -	199
C. felis[AF108862]	163 . -TTT. -	209
C. muris [L19069]	156 . —— . . C. -	199
C. parvum[X64341]	156 . —— . . C. C. -	199
C. serpentis[AF151376]	156 . —— . . C. -	199
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	153 . —— -	196
Pig1[AF108861]	158 . —— -	201
C. parvum[AF112576]	155 . —— -	198
C. parvum[AF112570]	154 . TAA— -	200

Cry-1	199 TAGGGTATTGGCCTACCGTGG-CAATGACGGGTAACGGGGAATTAGGGTT	247
Cry-2	199 -	247
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	200 CT-	248
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	199 -	247
mouse /C. M24[AF108863]	199 -	247
turkey/C. meleagris[AF112574]	199 -	247
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	200 -	248
C. felis[AF108862]	210 CT-	258
C. muris [L19069]	200 CT-	248
C. parvum[X64341]	200 CT-	248
C. serpentis[AF151376]	200 CT-	248
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	197 CT-	245
Pig1[AF108861]	202 -	250
C. parvum[AF112576]	199 -	247
C. parvum[AF112570]	201 -	249

Cry-1	248	CGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACATCTAAGGAAGGCA	297
Cry-2	248	297
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	249	298
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	248	297
mouse /C. M24[AF108863]	248	297
turkey/C. meleagridis[AF112574]	248	297
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	249	298
C. felis[AF108862]	259	308
C. muris [L19069]	249	298
C. parvum[X64341]	249	298
C. serpentis[AF151376]	249	298
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	246	295
Pig1[AF108861]	251	300
C. parvum[AF112576]	248	297
C. parvum[AF112570]	250	299

Cry-1	298	GCAGGGCGCGCAAATTACCCAATCC-T-AATACAGG-GAGGTAGTGACAAG	344
Cry-2	298	344
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	299 TGAC---. G.	345
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	298	344
mouse /C. M24[AF108863]	298	344
turkey/C. meleagridis[AF112574]	298	344
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	299	345
C. felis[AF108862]	309	355
C. muris [L19069]	299 TGAC---. G.	345
C. parvum[X64341]	299 TGAC---. A-	345
C. serpentis[AF151376]	299 TGAC---.	345
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	296 TGAC---.	342
Pig1[AF108861]	301	347
C. parvum[AF112576]	298	344
C. parvum[AF112570]	300	346

Cry-1	345 AAATAACAATACAGGA-CTTTT-----TGG-TTTTGTAAATTGGAATGAGT	387
Cry-2	345	387
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	346 GC. -----TA-AC. . TC. -	387
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	345-.....-TAAT.-.-.....	387
mouse /C. M24[AF108863]	345	387
turkey/C. meleagris[AF112574]	345	387
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	346	388
C. felis[AF108862]	356-.....-T-AC.-.....	398
C. muris [L19069]	346 GC. -----TA-AC. . TC. -	387
C. parvum[X64341]	346 GC. -----TA-AC. . TC. -	387
C. serpentis[AF151376]	346 GC. -----TA-AC. . TC. -	387
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	343 GC. -----TA-AC. . TC. -	385
Pig1[AF108861]	348 TT---A-.-.....	391
C. parvum[AF112576]	345-.....-TAACA-.-.....	388
C. parvum[AF112570]	347	389

Cry-1	388 -TAAGTATAAACCCCTTTA-CAAGTATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGC	435
Cry-2	388 -.....-.....-.....	435
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	388 TG..... CG-.....	436
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	388 -.....-.....-.....	435
mouse /C. M24[AF108863]	388 -.....-.....-.....	435
turkey/C. meleagris[AF112574]	388 -.....-.....-.....	435
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	389 -.....-.....-.....	436
C. felis[AF108862]	399 -.....-.....-.....	446
C. muris [L19069]	388 TG..... CG-.....	436
C. parvum[X64341]	388 TG..... CG-.....	436
C. serpentis[AF151376]	388 TG..... -.....-.....	436
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	386 -.....-..... G.....	433
Pig1[AF108861]	392 -.....-.....-.....	439
C. parvum[AF112576]	389 TG-.....-.....-.....	436
C. parvum[AF112570]	390 -.....-.....-.....	437

Cry-1	436 CAGCAGCCGGGTAATTCAGCTCCAATAGCGTATATTAA-AGT	478
Cry-2	436	478
Cry-3:ウシ 05/98/C. muris	437	479
Cry-4:ネズミ 01/98/C. parvum	436	478
mouse /C. M24[AF108863]	436	478
turkey/C. meleagridis[AF112574]	436	478
Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865]	437	479
C. felis[AF108862]	447	489
C. muris [L19069]	437	479
C. parvum[X64341]	437	479
C. serpentis[AF151376]	437	479
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	434	476
Pig1[AF108861]	440	482
C. parvum[AF112576]	437	479
C. parvum[AF112570]	438	480

Cry-1: ヒト 01/00/C. parvum, ヒト 02/00:Ma/C. parvum, ヒト 02/98/C. parvum, ヒト 03/98/C. parvum,
ウシ 01/98/C. parvum, ウシ 02/98/C. parvum, ウシ 03/98/C. parvum, ウシ 04/98/C. parvum ,
ウシ 06/98/C. parvum, ウシ 01/99/C. parvum, ウシ 02/99/C. parvum, ウシ 01/00/C. parvum,
ウシ 02/00/C. parvum, ウシ 03/00:Na/C. parvum, ウシ 04/00/C. parvum, ウシ 05/00/C. parvum,
ウシ 06/00/C. parvum, ウシ 07/00/C. parvum, ウシ 09/00/C. parvum, ブタ 01/98/C. parvum

Cry-2: ヒト 01/98:Sa/C. parvum, ヒト 02/99/C. parvum

図4. ヒトおよび各種動物から分離されたクリプトスポリジウムの18S rRNA領域
(18Shu+1130/18Shu-1729 プライマー増幅領域, 1079—1634)塩基配列

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	1	CGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGG	50
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	1	50
ウシ 03/00:Na/C. parvum	1	50
ネズミ 01/98/C. parvum	1	50
ウシ 01/99/C. parvum	1	-----.....	42
ウシ 04/98/C. parvum	1	50
ネコ 01/99/C. parvum	1	-----.....	36
ウシ 03/99/C. muris	1	50
ウシ 05/98/C. muris	1 C.....	50
ネズミ 01/99/C. muris	1	50
AUCP-1/C. parvum[L16996] *	1	50
turkey/C. meleagridis[AF112574]	1	50
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	1	50
C. sp[AF112573]	1	50
cat/C. felis[AF112575]	1	50
C. muris [L19069]	1	50
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	1	50
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	1	50
ヒト 02/00:Ma/C. parvum	51	AGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTACCAGGTCCAGAC	100
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	51	100
ウシ 03/00:Na/C. parvum	51	100
ネズミ 01/98/C. parvum	51	100
ウシ 01/99/C. parvum	43	92
ウシ 04/98/C. parvum	51	100
ネコ 01/99/C. parvum	37	86
ウシ 03/99/C. muris	51	100
ウシ 05/98/C. muris	51	100
ネズミ 01/99/C. muris	51	100
AUCP-1/C. parvum[L16996]	51	100
turkey/C. meleagridis[AF112574]	51	100
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	51	100
C. sp[AF112573]	51	100
cat/C. felis[AF112575]	51	100
C. muris [L19069]	51	100
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	51	100
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	51	100

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	101	ATAGGAAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTG	150
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	101	150
ウシ 03/00:Na/C. parvum	101	150
ネズミ 01/98/C. parvum	101	150
ウシ 01/99/C. parvum	93	142
ウシ 04/98/C. parvum	101	150
ネコ 01/99/C. parvum	87	136
ウシ 03/99/C. muris	101	150
ウシ 05/98/C. muris	101	150
ネズミ 01/99/C. muris	101	150
AUCP-1/C. parvum[L16996]	101	150
turkey/C. meleagridis[AF112574]	101	150
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	101	150
C. sp[AF112573]	101	150
cat/C. felis[AF112575]	101	150
C. muris [L19069]	101	150
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	101	150
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	101	150

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	151	GTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATCCGTT	200
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	151	200
ウシ 03/00:Na/C. parvum	151	200
ネズミ 01/98/C. parvum	151	200
ウシ 01/99/C. parvum	143	192
ウシ 04/98/C. parvum	151	200
ネコ 01/99/C. parvum	137	186
ウシ 03/99/C. muris	151	200
ウシ 05/98/C. muris	151	200
ネズミ 01/99/C. muris	151	200
AUCP-1/C. parvum[L16996]	151	200
turkey/C. meleagridis[AF112574]	151	200
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	151	200
C. sp[AF112573]	151	200
cat/C. felis[AF112575]	151	200
C. muris [L19069]	151	200
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	151	200
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	151	200

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	201 AACGAACGAGACCTTAACCTGCTAAATAGACATAAGAAATATTATATTTT	250
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	201	250
ウシ 03/00:Na/C. parvum	201	250
ネズミ 01/98/C. parvum	201 G. T. G. T. . T. TAA. .	250
ウシ 01/99/C. parvum	193	242
ウシ 04/98/C. parvum	201	250
ネコ 01/99/C. parvum	187 AT. . A. A.	236
ウシ 03/99/C. muris	201 GT. AT. T. T. C. A	250
ウシ 05/98/C. muris	201 GT. AT. T. T. C. A	250
ネズミ 01/99/C. muris	201 GT. AT. T. AT. T. . C.	250
AUCP-1/C. parvum[L16996]	201	250
turkey/C. meleagridis[AF112574]	201	250
AV-B1/ C. baileyi[L19068]	201 AT. AT. TC. . A	250
C. sp[AF112573]	201 A. TC. T. T. . A	250
cat/C. felis[AF112575]	201 AT. . A. A.	250
C. muris [L19069]	201 GT. AT. T. T. C. A	250
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	201 GT. AT. T. AT. T. . C.	250
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	201 GT. AT. T. AT. T. . C.	250

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	251 TTATCTGT—CTTCTTA—GAGGGACTTTGTATGTTTAATACAGGGAAGTT	297
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	251 —..... —.....	297
ウシ 03/00:Na/C. parvum	251 —..... —.....	297
ネズミ 01/98/C. parvum	251 . CT. T. TAGT. —.....	299
ウシ 01/99/C. parvum	243 .. —ATCTGTC. TC. TA.	289
ウシ 04/98/C. parvum	251 .. —ATCTGTC. TC. TA.	297
ネコ 01/99/C. parvum	237 .. T. TAT. TGTC. TC. TA.	286
ウシ 03/99/C. muris	251 . CT. A—TCTT. . . AGAGG. . ———. . . . CG. . CC. . . CG. GA.	295
ウシ 05/98/C. muris	251 . CT. A—TCTT. . . AGAGG. . ———. . . . CG. . CC. . . CG. GA.	295
ネズミ 01/99/C. muris	251 A. . . TATCTT. . . AGAGG. . ———. . . . CG. . . C. . . CG. GA.	296
AUCP-1/C. parvum[L16996]	251 —..... —.....	297
turkey/C. meleagridis[AF112574]	251 T. ... —..... —.....	297
AV-B1/ C. baileyi[L19068]	251 . CTGT———..... —..... G. C. . GA.	294
C. sp[AF112573]	251 .. T———GTC. TC. TA.	294
cat/C. felis[AF112575]	251 .. T. TAT. TGTC. TC. TA.	300
C. muris [L19069]	251 . CT. A. C. T———C. TA. CG. . CC. . . CG. GA.	295
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	251 A. . . TATCTT. . . AGAGG. . ———. . . . G. . . C. . . CG. GA.	296
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	251 A. . . TATCTT. . . AGAGG. . ———. . . . CG. . . C. . . CG. GA.	296

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	298	TTAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCCGGCGGG	347
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	298	347
ウシ 03/00:Na/C. parvum	298	347
ネズミ 01/98/C. parvum	300	349
ウシ 01/99/C. parvum	290	339
ウシ 04/98/C. parvum	298	347
ネコ 01/99/C. parvum	287	336
ウシ 03/99/C. muris	296	. G. A.	345
ウシ 05/98/C. muris	296	. G. A.	345
ネズミ 01/99/C. muris	297	. G. A.	346
AUCP-1/C. parvum[L16996]	298	347
turkey/C. meleagridis[AF112574]	298	347
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	295	344
C. sp[AF112573]	295	. G.	344
cat/C. felis[AF112575]	301	350
C. muris [L19069]	296	. G. A.	345
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	297	. G. A.	346
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	297	. G. A.	346

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	348	CGCTACACTGATGCATCCATCAAGTATATATTCCTGTTTCCAAGGAAATG	397
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	348	397
ウシ 03/00:Na/C. parvum	348	397
ネズミ 01/98/C. parvum	350 T. TG.	399
ウシ 01/99/C. parvum	340 -A. G. . AT	388
ウシ 04/98/C. parvum	348 -A. G. . AT	396
ネコ 01/99/C. parvum	337 T. AT. CTG. . TCG. A. G. . AT	386
ウシ 03/99/C. muris	346 G. G. C. TGT. . CGA. G. A-. . . .	394
ウシ 05/98/C. muris	346 G. G. C. TGT. . CGA. G. A-. . . .	394
ネズミ 01/99/C. muris	347 A. G. C. TGC. . CGA. G. A-. . G. .	395
AUCP-1/C. parvum[L16996]	348	397
turkey/C. meleagridis[AF112574]	348 ATA. . C. TGT. . C-.	396
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	345 T. TCTCC-.	392
C. sp[AF112573]	345 TA. . TA. -CG. A. G. . AT	393
cat/C. felis[AF112575]	351 T. AT. CTG. . TCG. A. G. . AT	400
C. muris [L19069]	346 G. G. C. TGT. . CGA-. A. G. . AT	393
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	347 A. G. C. TGC. . CGA. G. A-. . G. .	395
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	347 A. G. C. TGC. . CAA. G. A-. . G. .	395

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	398 GGTA-ATCTTTTGAATATGCATCGTGATGGGGATAGATCATTGCAATTAT	446
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	398 -	446
ウシ 03/00:Na/C. parvum	398 -	446
ネズミ 01/98/C. parvum	400 - G	448
ウシ 01/99/C. parvum	389 GTA	438
ウシ 04/98/C. parvum	397 GTA	446
ネコ 01/99/C. parvum	387 GTA	436
ウシ 03/99/C. muris	395 ATCT. A. GAG-	443
ウシ 05/98/C. muris	395 ATCT. A. GAG-	443
ネズミ 01/99/C. muris	396 ATCT. A. GAG- T	444
AUCP-1/C. parvum[L16996]	398 -	446
turkey/C. meleagridis[AF112574]	397 -	445
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	393 - A A	441
C. sp[AF112573]	394 GTA	443
cat/C. felis[AF112575]	401 GTA	450
C. muris [L19069]	394 GTA A G	443
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	396 ATCT. A. GAG- T	444
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	396 ATCT. A. GAG- T	444

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	447 TGATCTTGAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTGCCTG	496
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	447	496
ウシ 03/00:Na/C. parvum	447	496
ネズミ 01/98/C. parvum	449	498
ウシ 01/99/C. parvum	439	488
ウシ 04/98/C. parvum	447	496
ネコ 01/99/C. parvum	437 T	486
ウシ 03/99/C. muris	444 T	493
ウシ 05/98/C. muris	444 T	493
ネズミ 01/99/C. muris	445 T	494
AUCP-1/C. parvum[L16996]	447	496
turkey/C. meleagridis[AF112574]	446	495
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	442 C	491
C. sp[AF112573]	444 T -----	463
cat/C. felis[AF112575]	451 T -----	470
C. muris [L19069]	444 T -----	463
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	445 T	494
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	445 T	494

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	497	ATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATTGAA	546
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	497 T.....	546
ウシ 03/00:Na/C. parvum	497 T.....	546
ネズミ 01/98/C. parvum	499	548
ウシ 01/99/C. parvum	489	527
ウシ 04/98/C. parvum	497	539
ネコ 01/99/C. parvum	487 A.....	536
ウシ 03/99/C. muris	494 G	543
ウシ 05/98/C. muris	494 G	543
ネズミ 01/99/C. muris	495 G	544
AUCP-1/C. parvum[L16996]	497	546
turkey/C. meleagridis[AF112574]	496	545
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	492 G	541
C. sp[AF112573]	463	463
cat/C. felis[AF112575]	470	470
C. muris [L19069]	463	463
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	495 G	544
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	495 G	544

ヒト 02/00:Ma/C. parvum	547	TGATCCGGT	555
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	547	555
ウシ 03/00:Na/C. parvum	547	555
ネズミ 01/98/C. parvum	549	557
ウシ 01/99/C. parvum	527	527
ウシ 04/98/C. parvum	539	539
ネコ 01/99/C. parvum	537	545
ウシ 03/99/C. muris	544	552
ウシ 05/98/C. muris	544	552
ネズミ 01/99/C. muris	545	553
AUCP-1/C. parvum[L16996]	547	555
turkey/C. meleagridis[AF112574]	546	554
AV-B1/ C. baileyi [L19068]	542	550
C. sp[AF112573]	463	463
cat/C. felis[AF112575]	470	470
C. muris [L19069]	463	463
RN66 pCMU221/C. muris[X64342]	545	553
RN66 pCMU206/C. muris[X64343]	545	553

* : cattle/C. parvum[AF108864], ferret/CPF/C. parvum[AF112572], GCH1/C. parvum[AF161859], rhesus monkey/CPRM1/C. parvum[AF112569], Homo sapiens H7/C. parvum[AF108865], IOWA/C. parvum[AF164102], MT/C. parvum[AF161856], UPP/C. parvum[AF161857]

図5. ヒトおよび各種動物から分離されたクリプトスポリジウムのマイクロサテライト領域 (GAG+001/-240 プライマー増幅領域)塩基配列

H1/AJ249586	1	ATGGTGGAGAATATTCAGGAGGTTTTTAAAGATGAAAAATTAAGGAAAAGGAA-----	55
H2/AJ249587	1	55
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	1 T. G.	55
C1/AJ249582	1 G. AAGGA	60
ウシ 01/00/C. parvum	1 C. G. AAGGA	60
ウシ 03/00:Na/C. parvum *1	1 C. G. AAGGA	60
ウシ 02/99/C. parvum *2	1 G. AAGGA	60
ウシ 02/98/C. parvum	1 C. C. G. AAGGA	60
ネズミ 01/99/C. muris	1 C. G. AAGGA	60
C2/AJ249583	1 G. AAGGA	60
ヒト 01/00/C. parvum	1 G. AAGGA	60
ヒト 02/00:Ma/C. parvum	1 G. AAGGA	60
C3/AJ249584	1 G. AAGGA	60
C4/AJ249585	1 G.	55
H1/AJ249586	56	-GAATGAAAGAGGAGGAGGAAGAGGAAGAGGAAGAAGAAGAA-----GAAGAAGAAAAG	108
H2/AJ249587	56 GAAGAA.....	114
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	56 GAAGAA.....	114
C1/AJ249582	61	A..... G. . . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	117
ウシ 01/00/C. parvum	61	A..... G. . . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	117
ウシ 03/00:Na/C. parvum	61	A..... G. . . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	117
ウシ 02/99/C. parvum	61	A..... G. . . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	117
ウシ 02/98/C. parvum	61	A..... G. . . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	117
ネズミ 01/99/C. muris	61	A..... G. . . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	117
C2/AJ249583	61	A..... -----. . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	105
ヒト 01/00/C. parvum	61	A..... -----. . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	105
ヒト 02/00:Ma/C. parvum	61	A..... -----. . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	105
C3/AJ249584	61	A..... -----. . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	102
C4/AJ249585	56 -----. . . G. . . . G. . . . G. . . . GAG---. . . GG. . . G. .	99
H1/AJ249586	109	GAAGAGGAGGAAGGAAAGAAGAGGAAAAGGAAAGGAAAGGAAAAGAAAAGGAGAGAT	168
H2/AJ249587	115	174
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	115	174
C1/AJ249582	118 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	177
ウシ 01/00/C. parvum	118 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	177
ウシ 03/00:Na/C. parvum	118 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	177
ウシ 02/99/C. parvum	118 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	177
ウシ 02/98/C. parvum	118 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	177
ネズミ 01/99/C. muris	118 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	177
C2/AJ249583	106 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A. A. . . .	165
ヒト 01/00/C. parvum	106 A. . AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	165
ヒト 02/00:Ma/C. parvum	106 A. . AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A.	165
C3/AJ249584	103 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A. A. . . .	162
C4/AJ249585	100 AA. G. . A. . G. . G. . A. . G. . . . A. . . . A. A. . . .	159

H1/AJ249586	169 GATGAAGAAGATGATGGAGAAAAG	192
H2/AJ249587	175	198
ヒト 01/98:Sa/C. parvum	175	198
C1/AJ249582	178	201
ウシ 01/00/C. parvum	178	201
ウシ 03/00:Na/C. parvum	178	201
ウシ 02/99/C. parvum	178	201
ウシ 02/98/C. parvum	178	201
ネズミ 01/99/C. muris	178	201
C2/AJ249583	166	189
ヒト 01/00/C. parvum	166	189
ヒト 02/00:Ma/C. parvum	166	189
C3/AJ249584	163	186
C4/AJ249585	160	183

* 1 : ウシ 06/00/C. parvum

* 2 : ウシ 03/98/C. parvum, ウシ 04/98/C. parvum, ウシ 06/98/C. parvum, ウシ 01/99/C. parvum,
ウシ 02/00/C. parvum, ウシ 04/00/C. parvum, ウシ 05/00/C. parvum, ウシ 07/00/C. parvum

e. 参考文献

- 1) Widmer G. et al., Molecular and Biochemical Parasitology, 108, 187-197 (2000)
- 2) Patel S. et al., Communicable Disease and Public Health, 1(4), 231-233 (1998)
- 3) Caccio S. et al., Parasitology, 120, 237-244 (2000)

2. クリプトスポリジウムによる下痢症患者の発生および河川水、海域の汚染状況調査

a. 研究目的

高齢者の下痢症患者便からクリプトスポリジウムの検出を行い、下痢症患者におけるクリプトスポリジウムの感染状況を把握することを目的とした。

さらに、同地域の環境水の汚染状況を調査し、下痢症患者発生との関連性を明らかにすることを目的とし、下痢症患者の多くが居住している地域に水道水を供給している河川水および、その河川が流入している海域の海水を調べる代りにそこで養殖されているホタテ貝からクリプトスポリジウムの検出を行った。

b. 研究材料と方法

(1) 高齢者下痢症患者からのクリプトスポリジウムの検出

平成 14 年 1 月から平成 15 年 1 月の間に A 県下の公立病院の内科に受診した 60 歳以上で下痢症を伴っていた 106 名のふん便（直採）を検査材料とした。

クリプトスポリジウムの検出方法は、検査材料を遠心し、その沈殿の 10 μ l をスライドグラスに塗布した後、蛍光抗体染色法でクリプトスポリジウムの検出を行った。

(2) 河川水からのクリプトスポリジウム検出

河川水は、平成 14 年 1 月から平成 15 年 4 月（平成 14 年 9 月から 12 月の間を除く）の間、毎月 1 回、6L または 3L を採取し、濾過膜で透過後、その膜の表面をかき取り、遠心した後、シヨ糖遠心沈殿浮遊法によりクリプトスポリジウムを回収し、蛍光抗体染色法でクリプトスポリジウムの検出を行った。

(3) ホタテ貝からのクリプトスポリジウム検出

ホタテ貝は、平成 14 年 1 月から平成 15 年 4 月（平成 14 年 9 月から 12 月の間を除く）の間、毎月 1 回、10 個を採取した。ホタテ貝の中腸腺を摘出し、リン酸緩衝液で 50% 乳剤とした後、シヨ糖遠心沈殿浮遊法によりクリプトスポリジウムを回収し、蛍光抗体染色法で検出を行った。

c. 研究成績

検査した下痢症患者の年齢分布は表 2. に示した。平成 14 年 1 月から平成 15 年 1 月の 60 歳代から 90 歳代の下痢症患者 106 名で陰性であった。

平成 14 年 1 月から平成 15 年 4 月（平成 14 年 9 月から 12 月の間を除く）の間に採取し