

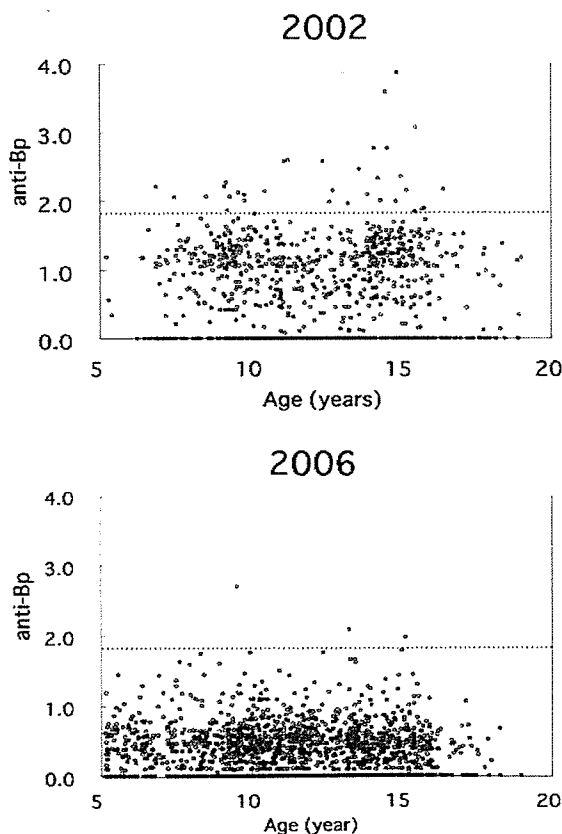
得た（スリランカではルフナ大学医学部倫理委員会、ケニアではケニア中央医学研究所の承認）。また、実施に当たり検者よりインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

1. 治療効果の評価（スリランカ）

2002年の集団治療前、尿ELISA陽性率は3.2%であった。これまで4回治療され、陽性率は0.37%まで低下した。抗体価の明瞭な減少と共に最若年陽性者の年齢が3才程度上昇した。この間、伝搬が起きていないことを示唆する（図1）。

図1



2. ケニアにおける尿診断法の有用性に関する研究

フィラリア感染者（ICT card test 陽性）、ビルハルツ住血吸虫感染者（虫卵陽性）、および両者陰性の者についてフィラリア特異的尿ELISAを実施した（表1）。その結果、住血吸虫感染により交差反応が生ずることが明らかとなった。ICT+の村のELISA陽性率も予想より低い。

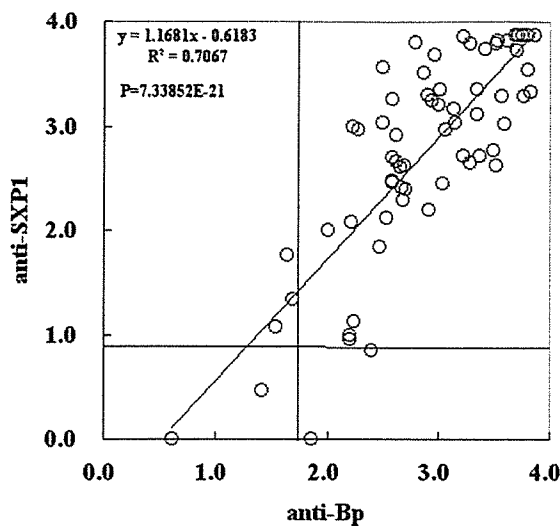
表1

村落名	尿ELISA	
	検査数	陽性者(陽性率)
Kilimangodo (ICT +)	72	61 (84.7%)
Kitui (egg + & ICT -)	138	54 (39.1%)
Kiambu (egg - & ICT -)	63	0 (0.0%)

3. 組換え抗原 SXP-1 を用いた ELISA の開発

アフリカで尿診断を用いるためには従来の尿ELISAより特異性の高い診断法が必要である。第一段階としてバンクロフト糸状虫より得たSXP-1抗原の使用により、感度、特異性共に従来法に代わりうるELISAを確立した（図2）。

図2



D. 考察

1. 治療効果の評価（スリランカ）

過去4回に渡り集団治療の効果をモニターし、尿中 IgG4 抗体が着実に減少していることを確認した。尿 ELISA は治療効果の判定に有用であると結論付けて良いものとする。同時に、小学生を対象としてフィラリア症の伝播強度を知る方法も有効であることが示されたことになる（但し、WHO のやり方では最終判定は5回目の集団治療後となる）。世界的撲滅計画の進展に伴い、患者数が減少すると、従来のように採血による感染率の調査は増々困難になると予想される。今後、尿 ELISA の実用的価値が出て来るものと期待される。

2. アフリカにおける尿診断法の有用性に関する研究

尿 ELISA はケニアでは良い結果が得られなかった。主としてアフリカに流行する住血吸虫がフィラリアと交差反応を起

こすためである。アフリカはフィラリア症の大流行地であるが、ここで尿 ELISA を使用するには技術的改良が必要である。その第一歩として、組換えタンパク SXP-1 を使用する新しい尿 ELISA が開発された。現在、様々な改良がなされている。

E. 結論

尿中 IgG4 を検出する尿 ELISA は (i) フィラリア集団治療の効果判定（モニタリング）に利用できることがほぼ確実となった（スリランカ）。また (ii) 尿 ELISA のアフリカでの応用には、さらなる技術上の改良が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Temporary shift of microfilariae of *Brugia pahangi* from the lungs to muscles in Mongolian jirds, *Meriones unguiculatus*, after a single injection of diethylcarbamazine. S. Shigeno, Y. Fujimaki, K. Toriyama, A. Ichinose, Y. Mitsui, Y. Aoki and E. Kimura. *Journal of Parasitology*, 92: 1075-1080, 2006.

2. 学会発表

(1) スリランカの象皮病多発家系における罹患同胞対解析を用いた疾患感受性遺伝子の探索. 高木明子, Weerasooriya MV, 菊池三穂子, 伊藤誠, 木村英作, 安波道郎, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 平山謙二. 日本寄生虫学会大会. 2006年5月(弘前)

(2) Early diagnosis of visceral leishmaniasis

by *Leishmania donovani* specific urinary antibody in a community in Bangladesh. Islam MZ, 伊藤誠, Islam Md. Anwar Ul, Ekram ARM Saifuddin, 高木秀和, 橋口義久, 木村英作. 日本寄生虫学会大会. 2006年5月(弘前)

(3) 組換え抗原を用いたバンクロフト糸状虫症の尿診断. 高木秀明, 伊藤誠, Weerasooriya MV, 藤巻康教, Islam MZ, 木村英作. 日本寄生虫学会大会. 2006年5月(弘前)

(4) 尿中抗フィラリア IgG4 抗体の減少を認めたケニアのフィラリア症患者. 武居敦英. Mwandawiro C, Islam MZ, 伊藤誠, Mukoko DAN, Makau J, 三井義則, 天野皓昭, 木村英作. 日本寄生虫学会大会. 2006年5月(弘前)

(5) Could urine really be useful for serum samples for diagnosis of visceral leishmaniasis in a field survey? Islam MZ, 伊藤誠, Islam Md. Anwar Ul, Ekram ARM Saifuddin, 高木秀和, 橋口義久, 木村英作. 日本熱帯医学会大会. 2006年10月(長崎)

(6) バングラデシュにおける内臓リーシュマニア症の流行状況. 伊藤誠, Alam MS, Islam MZ, Ekram ARM Saifuddin, Islam Md. Anwar Ul, Rahman Md A, Wagatsuma Y, 木村英作. 日本熱帯医学会大会. 2006年10月(長崎)

(7) 世界規模でのフィラリア症根絶計画に寄与するための基礎的・応用的研究. 木村英作. 日本熱帯医学会大会. 2006年

10月(長崎)

(8) PacELF (2): 大平洋島嶼国におけるフィラリア症根絶対策評価サンプリングの事例. 一盛和世, Graves P, 木村英作, 高宮亜紀子, Koroivueta J, Burkot T, Lam NN.

日本熱帯医学会大会. 2006年10月(長崎)

(9) 東チモールにおけるフィラリア症の流行状況に関する経過報告. 武居敦英, Amaral S, da Costa A, 伊藤誠, Reeve D, Counahan M, Andjaparidze A, 木村英作, 大前比呂思. 日本熱帯医学会大会. 2006年10月(長崎)

(10) フィラリア症の尿診断法に及ぼすビルハルツ住血吸虫感染の影響. 伊藤誠, Wamae N, 高木秀和, Kiliku FM, 青木克巳, 木村英作. 日本熱帯医学会大会. 2006年10月(長崎)

(11) Evaluation of the mass drug administration program for the lymphatic filariasis elimination program in Sri Lanka with ELISA using urine samples. Itoh M, Weerasooriya MV, Isogai Y, Mudalige MPS, Yahathugoda C, Islam MZ, Kimuea E. 第41回日米医学協力プログラム寄生虫部会合同会議, 2007年2月(東京).

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

回虫幼虫期の蛋白発現プロファイルの作製によってブタ回虫幼虫期の脱皮は複数の蛋白発現が関与することが分かった。なかでも無機ピロホスファターゼ (AsPPase) は回虫幼虫期の発育に欠かせないことが明らかとなった。また、RNA 干渉法を用いて作出したセリンプロテアーゼ (HISP) ノックダウンマダニによってマダニ中腸上皮で発現する HISP が宿主赤血球の溶血に重要な役割を果たしていることが実証された。

A. 研究目的

本研究では、宿主体内（回虫）及び体表（マダニ）で生き延びるために狡猾な生残戦略を備えていると想定される回虫及びマダニ遺伝子産物の機能解明を実施し、利己的遺伝子戦略・分子戦略を阻害することのできる新しい寄生虫感染防除技術を確立し、薬物残留が危惧されている現在の化学療法剤に依存した駆虫法からの脱却をめざす。

B. 研究方法

寄生線虫の回虫及び感染症の媒介者であるマダニの生残に必須な生物活性分子（蛋白・酵素）をコードする遺伝子を単離した。組換え蛋白質を用いて標的遺伝子産物の生化学的・酵素学的性状を明らかにし、寄生虫生活環を支える遺伝子産物の機能を推定した。さらに、RNA 干渉法による逆遺伝学的手法を用いて標的遺伝子のノックダウンマダニを作製し、*in vivo*における標的遺伝子産物の機能解明を実施した。具体的には以下の手法を用いて検討した。

回虫：

- 1) ブタ回虫幼虫期虫体の *in vitro* 培養は *Ascaris suum* 成熟卵を経口投与したウサギの肺より得られた肺内幼虫 (LL3) を用いて行った。
- 2) 2次元電気泳動は等電点電気泳動と SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いて実施し、分離した蛋白質は銀染色またはニトロセルロース膜に転写した。イムノプロットは抗ブタ回虫抗体を用いて NBT/BCIP で可視化した。
- 3) 免疫蛍光抗体法は抗ブタ回虫血清を用いて LL3 のパラフォルムアルデヒド固定及びはアセトン固定虫体を用いて実施した。可視

化は FITC 標識抗ブタ IgG 2 次血清を用いて行った。

- 4) AsPPase の活性は、虫体を 20mM Tris-HCl, pH7.5 で可溶化し、抽出した蛋白質を 5mM Mg^{2+} , 100mM Tris-HCl(pH7.5), 1mM ピロホスフェートの反応液中に添加して測定した。
- 5) 電子顕微鏡観察は 3%グルタルアルデヒド (0.1M リン酸緩衝液, pH7.4) 固定した虫体を用いて実施した。可視化は定法に従って行った。
- 6) 内部アミノ酸配列解析はアクリルアミドゲルから回収した蛋白スポットを用いて行った。エンドペプチダーゼ処理したゲルから得られた断片を逆相クロマトグラフィーを用いて分取し、Procise 494 にてアミノ酸配列を決定した。

マダニ：

- 1) マダニ生物活性分子(TBM)をコードするマダニ EST データベースより HISP を単離した。
- 2) HISP の発現動態は定量 PCR を用いて検討した。
- 3) 内在型 HISP は免疫組織化学及び免疫蛍光抗体法を用いて細胞生物学的に検討した。
- 4) HISP の加水分解活性は合成基質及び内在性基質を用いて検討した。
- 5) ノックダウンマダニの作製は標的遺伝子 dsRNA の血体腔へ注入によって実施した。

C. 研究結果

回虫：

- (1) AsPPase の阻害剤である NaF への暴露によって脱皮が阻止された LL3 の発現スポットを正常発育した虫体（脱皮した LL4）と

比較したところ、脱皮に伴って 22 個の特異スポットが確認された。

(2) NaF 暴露 LL3 ではブタ回虫防御抗原として同定されている As16 (豚回虫症ワクチン抗原) の発現が抑制されていることが分かった。

(3) NaF 暴露 LL3 では AsPPase の活性が抑制されていることが分かった。

(4) 脱皮が阻害された LL3 ではクチクラ新生の抑制が確認された。

(5) アミノ酸配列解析によって NaF 暴露 LL3 で特異的に発現が抑制された蛋白質の中に 3-hydroxyacryl -CoA dehydrogenase/ short-chain dehydrogenase enzyme が確認された。

マダニ：

(1) 内在性 HISP は中腸内腔及びその内容物に確認され、分泌が強く示唆された。

(2) 大腸菌で作製した組換え HISP(rHISP)には濃度依存的にウサギ赤血球を溶血させ、1 時間以内でほぼ溶血が完了した。至適 pH は 6.0 であった。

(3) rHISP は赤血球膜の Band3 に特異親和性があること確認された。

(4) HISP mRNA 発現を特異的に阻止させる RNA 干渉を応用し、HISP ノックダウンマダニ作製したところ、無処置群と比較して中腸内における赤血球破壊の抑制が確認されたことから、HISP は宿主赤血球の溶血に重要な役割を果たしていることが示唆された。

(5) 以上より、HISP は宿主血液の分解カスケードの初期段階に必須な酵素であると考えられた。

D. 考察

回虫：回虫の幼虫期虫体の脱皮を支える分子群は回虫ワクチンの候補分子を含むことが分かった。おそらく、それらは回虫の発育を支える重要な分子群であると考えられる。

マダニ：HISP は吸血によって取り込んだ宿主赤血球の溶血作用に重要な役割を果たしていることからマダニの吸血行動に欠かせない蛋白分解酵素であると考えられた。

E. 結論

本知見はブタ回虫幼虫の脱皮過程を標的とした抗寄生虫薬の開発に有効な知見であると

考えられた。また、ブタ回虫は抗寄生虫薬の開発に有望なモデル寄生虫であると思われる。さらに、マダニセリンプロテアーゼはマダニの生存に必須であることから、これら分子を標的とする新規の抗回虫薬及び抗寄生線虫薬、抗マダニ薬・外部寄生虫薬の開発が期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表

Islam ML, Miyoshi T, Yamada M, Alim MA, Huang X, Motobu M, Tsuji N (2006) Fluoride exposure inhibits protein expression and enzyme activity in the lung-stage larvae of *Ascaris suum*. *Parasitology* 133, 497-508.

Islam ML, Miyoshi T, Yamada M, Alim MA, Huang X, Motobu M, Tsuji N (2006) Effect of piperazine (diethylenediamine) on the moulting, proteome expression and pyrophosphatase activity of *Ascaris suum* lung-stage larvae. *Acta Tropica* 99, 208-217.

2. 学会発表

三好猛晴、辻尚利、Khyrul Islam、黄曉紅、本部真樹、Abdul Alim、藤崎幸蔵。フタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* 中腸由来溶血性セリンプロテアーゼの機能と発現。第 75 回日本寄生虫学会大会。p.88.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

以上なし

分担研究報告書

中国青海省におけるエキノコックス症の疫学的調査研究

分担研究者	川中正憲	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	森嶋康之	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	余森海	中国疾病予防センター寄生虫病研究所
研究協力者	王 虎	中国青海省地方病予防控制所

研究要旨：中国青海省のチベット族居住地域である果洛チベット族自治州においてエキノコックス症の調査研究を実施した。IHA による血清抗体の検査では、陽性者は 25.8% (287/1113) に達し、女性は 31.1%で男性は 20.3%であった。超音波検査の受診者 1549 人の中で陽性であったものは 124 人 (8.0%)、このうち 85 人(69%)が単包性、39 人(31%)が多包性エキノコックス症であり、女性と男性の罹患率は、夫々9.8%と 6.2%であった。そこで、超音波検査(US)による陽性者の血清をウエスタンブロット(WB)により解析し、単包性、多包性という鑑別診断について US と WB との結果を比較した。

A. 研究目的

中国西部の青海省では単包条虫および多包条虫による包虫症（エキノコックス症）が公衆衛生上重要な問題となっているが、現在までの疫学調査は不十分なものであった。そこで、今回の調査の第一の目的は、チベット族住民のエキノコックス感染状況を明らかにすることにある。また、今後の調査を進めるにあたって、それに用いる手法を検討しておく必要があり、特に単包虫症と多包虫症の鑑別を巡る問題がある。両症の鑑別は、確定的には病理検査に依らねばならないが、超音波など画像診断によっても可能とされている。しかし一方で、画像診断を補助或いは補完する手段として特異性の高い血清診断法が求められている。

そこで、この目的で市販「Echinococcus Western Blot IgG」(France、LDBIO)を用い、どの程度USとWBとの間で結果に一致が見られるかについての検討を行った。

B. 研究方法

現地におけるエキノコックス症の調査は、ポータブル US により腹部画像診により実施し、WHO など従来の判定基準によって単包性及び多包性エキノコックス症の鑑別を行った。これらの陽性患者について、同意を得られたものについて血清を採取した。得られた血清は、「Echinococcus Western Blot IgG」(France、LDBIO)を用いて検査を実施し、結果は説明書にもとづいて、陰性、P1, P2, P3, P4, P5 の各パターンに分けた。

C. 研究結果

超音波検査の受診者 1549 人の中で陽性であったものは 124 人 (8.0%)、このうち 85 人(69%)が単包性、39 人(31%)が多包性エキノコックス症であり、女性と男性の罹患率は夫々、9.8%と 6.2%であった。また、IHA による血清抗体の検査では、陽性者は 25.8% (287/1113) に達し、女性は 31.1%で男性は 20.3%であった。そこで、超音波検査が陽性で、しかも IHA による血清抗体が陽性であった患者血清について解析を行った。その結果、US による単包性 63 例は、陰性 : 8(12.6%), P1:12(19.0%), P2:21(33.3%), P3:5(7.9%), P4:6(9.5%), P5:11(17.4%)とパターンが分散するのに対し、US による多包性 30 例は、陰性:3(10%)、P1:0, P2:2(6.6%), P3:25(83.3%), P4:0, P5:0 という、パターンが P3 に 80%以上が集中するという特徴が現れた。

D. 考察

中国青海省のチベット族居住地域である果洛チベット族自治州においては、腹部超音波検査によって受診者の 8 パーセントもの高率でエキノコックス症が検出される。これら陽性者の約 7 割が単包性で、残る 3 割が多包性エキノコックス症であった。エキノコックス症で特に予後が重篤なのは多包虫症である。何らの治療も施さなかった場合には、単包虫症の死亡率が 10%であるのに対して、多包虫症は 90%にもなると云われ、両者の鑑別をより高い精度で行う必要がある。今回用いた市販キットの説明書によれば、WB のパターンから単包虫症の可能性の強いもの : P1,P2、多包虫症

の可能性の強いもの : P3、どちらとも決め難いもの : P4,P5、としている。その点から今回のデータを見てみると、ディスクレパンシーは、US による単包性 63 例のうち P3 を示した 5 例、更に、US による多包性 30 例のうち P2 を示した 2 例で認められたのみであった。

E. 結論

市販キットである「Echinococcus Western Blot IgG」(France、LDBIO)は、単包虫症と多包虫症とが混在分布している地域における診断法として極めて有用である。但し、本キットは、高価なことから実際利用には問題がある。従って、本キットで用いられている抗原に注目し、より安価に利用できる反応系の開発が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 単包条虫と多包条虫とが混在分布している地域でのエキノコックス症の血清診断について. 川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山広、古屋宏二、第 75 回日本寄生虫学会大会 (弘前)、プログラム・抄録集、90 (2006)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

マラリア・住血吸虫の寄生適応機構の研究

分担研究者 金澤 保（産業医大・免疫学寄生虫学）

研究要旨

慢性関節リウマチ（RA）のモデルとして多用されているマウス・コラーゲン関節炎（CIA）に対するマラリア住血吸虫（Sm）感染の効果について検討した。Sm 感染により CIA の発症は有意に抑制された。II 型コラーゲンに対する IgG 抗体価は、対照群においては経時的に上昇したが、感染群ではそのような上昇は観察されなかった。免疫後 12 週（感染後 14 週）に回収された虫体ペア数と関節炎指標は有意な逆相関を示した。感染によって、炎症が抑制される方向へのサイトカイン産生パターンの変化が観察された。このような変化は、抗原投与マウスにおいては観察されなかった。

[研究協力者]

長田 良雄 新井 明治 熊谷 貴

A. 研究目的

微生物や寄生虫の感染によってアレルギーや自己免疫などの免疫異常疾患が予防される、あるいは改善するという現象が、疫学的証拠あるいは実験的証拠により示唆されてきている（いわゆる「衛生仮説」）。住血吸虫感染に関しても、種々のアレルギーおよび自己免疫疾患の発症を抑制するという実験的報告がある。

慢性関節リウマチ（RA）は国内だけで 70 万人の患者がいるとされている主要な自己免疫疾患であるが、この疾患と寄生虫感染の関係は明らかでない。しかし、フィラリア ES 物質の投与やトリパノソーマ感染により、マウスやラットの実験的関節炎の症状が抑制されたという報告がなされている。

本年度我々は、住血吸虫の感染あるいはその抗原の投与が、実験的関節炎の発症に与える影響を評価した。

B. 研究方法

＜感染実験＞ マラリア住血吸虫（Sm）セルカリア 40 隻を DBA/1 マウスに経皮的に感染し、2 週後にウシ II 型コラーゲン（IIC）200 μg を FCA エマルジョンとして尾部根元の皮内に免疫した。免疫後 4～12 週において肉眼観察によるスコアリング（0-3 点）および四肢の厚み測定を行った。四肢のスコアの合計点および 2 mm 以上の腫れを示した肢数を個体ごとに算出し、関節炎の程度を評価した。2 週おきに眼窩より採血を行い、抗コラーゲン抗体を測定した。実験終了時（12 週目）には門脈灌流により成虫を回収した。また脾細胞を ConA で刺激培養し産生されるサイトカインの測定を行った。

＜抗原投与実験＞ 免疫時の -6 日～+14 日（免疫前後）、または +35 日～+55 日（発症前後）、4 日に 1 回ずつ計 6 回、成虫可溶性抗原（SWAP）あるいは虫卵可溶性抗原（SEA）を腹腔内投与した。

[倫理面への配慮]

実験動物処置の際は必ず麻酔を使用した。産業医科大学動物実験及び飼育倫理審査において承認を受けている（承認番号：AE04-038）。なお本

研究では人体材料は用いていない。

C. 研究結果

〈感染実験〉 Sm感染によって関節炎の指標(関節炎スコアおよび腫脹足肢数)は有意に低下した。抗コラーゲン抗体値(IgG, IgG2a)は、対照群においては4週から12週にかけて上昇したが、感染群においてはこのような上昇は見られなかった。個体ごとの比較を行うと、灌流によって回収された虫体ペア数と、関節炎指標および抗コラーゲン抗体値は逆相関の関係にあった。感染群においては、ConA刺激脾細胞からのTh1(IFN γ)サイトカインや炎症性サイトカイン(TNF α 、IL-17)産生の低下と、Th2サイトカイン(IL-4)や抗炎症サイトカイン(IL-10)産生の上昇が観察された。

〈抗原投与実験〉 Sm抗原(SWAP または SEA)投与群においては、対照群に比し関節炎強度に若干の増悪傾向が見られた(有意ではない)。また抗原投与群においてIFN γ 産生低下およびIL-4産生上昇がみられたが、炎症に関わるサイトカイン(TNF α やIL-10)の産生パターンの変化は観察されなかった。

D. 考察

住血吸虫感染により、マウス・コラーゲン関節炎(CIA)の発症が抑制されたが、これには成虫のペアの存在が必要であった。また、同時に炎症抑制方向へのサイトカイン産生パターンの変化が観察されたことから、住血吸虫の成熟成虫(あるいは産下された虫卵)は宿主にsystemicな抗炎症環境を誘導し、宿主体内での生存を図っている可能性が示唆された。

E. 結論

住血吸虫感染により、マウス・コラーゲン関節炎が改善することが示された。この現象に関与する因子を解析することにより、将来的には寄生虫由来物質を用いた自己免疫性慢性炎症の治療法開発が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki T, Osada Y, Kumagai T, Hamada A, Okuzawa E, Kanazawa T.
Early detection of *Schistosoma mansoni* infection by touchdown PCR in a mouse model. *Parasitol Int.* 55(3):213-8. 2006

Kumagai T, Osada Y, Kanazawa T.
2-Cys peroxiredoxins from *Schistosoma japonicum*: the expression profile and localization in the life cycle. *Mol Biochem Parasitol.* 149(2):135-43. 2006

2. 学会発表

長田良雄、熊谷貴、奥沢英一、濱田篤郎、金澤保
マウス関節炎に対する住血吸虫抗原投与の影響
第75回 日本寄生虫学会大会
弘前 (2006年5月)

Osada Y, Kumagai T, Okuzawa A, Hamada A and Kanazawa T
Schistosome infection suppresses collagen-induced arthritis in mice
Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases US-Japan Cooperative Medical Science Program
東京 (2007年2月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金 (国際医学協力 研究事業)
寄生虫症の病態・治療及び予防に関わる標的分子探索と
その国際寄生虫対策への応用的展開に関する研究
分担研究報告書

地域参加型の住血吸虫症対策モデルの構築
分担研究者 門司和彦 長崎大学熱帯医学研究所 教授

本年度は中国洞庭湖周辺における日本住血吸虫感染の行動リスク要因の分析を実施し、風土病研究における行動リスク要因分析手法の困難性、特に急性感染症・非感染症についての疫学との違いを検討した。

A. 研究目的

中国洞庭湖周辺における日本住血吸虫感染の行動リスク要因の分析、および、風土病研究における行動リスク要因分析の手法の検討し、地域参加型の住血吸虫症対策の参考とすること。

B. 研究方法

時間節約的スポットチェック行動観察法 (Time-saving spot-check method) による住民の生活時間配分の直接観察を 2 回実施し、検便 (Kato-Katz 法) による日本住血吸虫虫卵数との関連を検討した。

C. 研究結果

二つの調査期間に共通して 112 人 (男性 59 人, 女性 53 人, 観察数=3136 spots) の行動を観察する事ができた。その際、観察された 53 種類の行動を、それが行なわれた場所に着目して、湿地帯 (marshland) や川 (river), 養魚池 (fishpond), 集落内 (hamlet), 集落外 (outside) の 5 つに分類した。住民の行動は、5 つの場所への時間配分に着目して分析し、リスク行動の多いことが期待される湿地帯内の行動については、さらに各行動への時間配分を用いて分析した。

湿地帯で過ごす時間について見ると、若年層では、繁忙期が閑散期に比べ有意に長く ($p < 0.01$), また男性の方が女性に比べ有意に長く、行動の種類にも性別と季節により違いがあった。

Kato-Katz 法の結果、122 人中 (男性 64 人, 女性 58 人), 男性 12 人, 女性 6 人の合計 18 人 (有病割合 14.8%; 95%信頼区間: 8.5-21.0)

に日本住血吸虫の虫卵を認めた。虫卵陽性者の間では、EPG (egg per gram) の中央値は 8, 25-75 パーセント点は 8-16 だった。若年層の罹患率は、男性が女性に比べて有意に高く ($p = 0.04$), 中高齢層の罹患率に有意な性差は見られなかった。多変量解析の結果、感染強度と「湿地帯における漁船整備」に費やす時間との間に有意な正の相関関係が認められた ($p < 0.001$, $r^2 = 0.24$)。

D. 考察・E. 結論

調査地域の場合、住血吸虫感染は湖畔の湿地帯での船の修理に関連していた。この行動は中年の男性に多く、この人達への健康教育と感染季節後の集団治療が有効だと考えられた。

(F. 健康危機情報 特になし)

G. 研究発表 (論文発表)

Shouhei Takeuchi, Yuesheng Li, Yongkang He, Huan Zhou, Moji Kazuhiko, Ohtsuka Ryutaro and Chiho Watanabe: "BEHAVIORS ASSOCIATED WITH WATER CONTACT AND SCHISTOSOMA JAPONICUM INFECTION IN A RURAL VILLAGE, THE DONGTING LAKE REGION, CHINA". Tropical Medicine and Health, Vol. 34, pp.117-123 (2006)

H. 知的財産権 なし

マラリア原虫の寄生適応機構

分担研究者 狩野 繁之 国立国際医療センター研究所 部長

研究協力者 河津信一郎 帯広畜産大学原虫病研究センター 教授

研究要旨：チオレドキシシン系抗酸化タンパク Peroxiredoxin (Prx) の欠損が原虫生理に与える影響を観察する目的で、2-Cys 型 Prx (TPx-1) 遺伝子を欠損するローデントマラリア原虫を作製し、表現型を観察した。Prx 欠損原虫 (Prx KO)、マーカー遺伝子座で組換えをおこし薬剤耐性のみを獲得した原虫 (Prx WT) および親株 (WT) に感染したマウスに蚊 (*Anopheles stephensi*) を吸血させ、その 14 日後に中腸でのオーシスト形成を比較したところ、Prx KO では成熟オーシストの数が Prx WT/WT の約 1/10 に減少していた。この時、オーシストの総数には有意な差は見られなかった。吸血 21 日後に、Prx KO でのスポロゾイト数を算定したところ、中腸では Prx WT/WT の約 1/10、唾液腺でも約 1/10~1/30 に減少していた。これらから、抗酸化タンパク 2-Cys 型 Prx がローデントマラリア原虫のスポロゾイト形成に関連して機能していることが示唆された。

A. 研究目的

マラリア原虫にとって、宿主寄生体関係の最前線で原虫が被る酸化ストレスへの適応機構、即ち、原虫細胞内での抗酸化タンパクの発現調節機構は原虫の寄生適応の成否を左右する重要なメカニズムと考える。私達は、チオレドキシシン系抗酸化タンパクをモデルとして、マラリア原虫での酸化ストレス適応の分子メカニズムの一端を解明することをこの分担課題での目的としている。具体的には、一連の研究を通じて、同分子群の生理機能、活性化のメカニズムを解明し、原虫寄生適応戦略での役割を明らかにする。

私達は、以前 2-Cys 型ペルオキシレドキシシン (Prx) を欠損する熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) は O₂ならびに NO

の負荷に対する感受性が上昇するが、通常の *in vitro* 培養では親株と同様に増殖することを報告した。今回は、*in vivo* 環境で Prx の欠損が原虫生理に与える影響を観察する目的で、2-Cys 型 Prx (TPx-1) 遺伝子を欠損するローデント (ネズミ) マラリア原虫 (*P. berghei*, ANKA strain) を作製し、表現型を観察した。

B. 研究方法

ノックアウトコンストラクトの導入、薬剤マーカー (ピリメタミン) によるスクリーニング後に、限界希釈で得られたクローンについて 2-Cys 型 Prx 遺伝子座での相同組換えを Southern blot で確認した。この時、マーカー遺伝子座で組換えをおこしピリメタミンに対する耐性のみを獲得した原虫クローンも、薬

剤耐性コントロール (Prx WT) として選択した。Prx KO、Prx WT および WT に感染したマウスに蚊 (*Anopheles stephensi*) を吸血させ、その 14 日後に中腸でのオーシスト形成を比較した。また、その 1 週後に、中腸および唾液腺でのスポロゾイト (感染型原虫) の数を比較した。

全ての実験は国立国際医療センター研究所および、愛媛大学医学部 (研究協力者) のバイオセーフティー委員会、動物実験管理委員会の許可を受けておこなった。

C. D. 研究結果および考察

吸血 14 日後の観察において、Prx KO では成熟オーシストの数が Prx WT/WT の約 1/10 に減少していた。この時、オーシストの数には有意な差は見られなかった。吸血 21 日後に、Prx KO でのスポロゾイト形成数を算定したところ、中腸では Prx WT/WT の約 1/10、唾液腺でも約 1/10 ~ 1/30 に減少していた。吸血 15 日目に、原虫感染蚊中腸の様子を電子顕微鏡で観察したところ、WT 感染蚊中腸では多数のスポロゾイトを包含する成熟オーシストが観察された。これに対して、同時期の Prx KO 感染蚊中腸ではスポロゾイトを包含するオーシストは殆ど観察されず、また、少数観察されたスポロゾイト包含オーシストにおいても、スポロゾイトの出芽異常、スポロゾイト細胞での空胞形成等の器質的変化が観察された。免疫電顕法により、Prx KO オーシストの分裂初期核周囲に 8-OHdG の蓄積が観察された。これらの成績から、2-Cys 型 Prx 欠損原虫では、媒介蚊中腸でのオーシストの初期発育が阻害され、結果としてスポロゾイトの形成数が減少することが示唆された。Prx がオーシスト発育過程で果たす役割につ

いては、ゲノム DNA の酸化損傷を制御する機能を考察しているが、DNA の酸化損傷からスポロゾイトの出芽異常に至るメカニズムの解明には、今後更に詳細な解析が必要であると考えられる。

E. 結論

新規抗酸化タンパク 2-Cys 型 Prx がローデントマラリア原虫のスポロゾイト形成に関連して機能していることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yano K, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S, Kawazu S: 2-Cys Peroxiredoxin TPx-1 is involved in gametocyte development in *Plasmodium berghei*. *Mol Biochem Parasitol* 148(1): 44-51, 2006

2. 学会発表

1. 矢野和彦、大槻 均、新井明治、坪井敬文、鳥居本美、駒木-安田加奈子、狩野繁之、河津信一郎: 2-Cys 型ペルオキシレドキシシン (Prx) ノックアウトがマラリア原虫の蚊体内発育に及ぼす影響の解析. 第 141 回日本獣医学会、つくば、2006
2. Yano K, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S, Kawazu S: Peroxiredoxin is involved in gametocyte development in *Plasmodium berghei*. 第 11 回国際寄生虫会議 (ICOPA XI)、グラスゴー、2006 年 8 月

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業「寄生虫の宿主適応機構の分子情報解明に基づく新しい治療戦略開発及びその寄生虫対策への応用に関する研究」）

分担研究報告書

熱帯熱マラリア原虫ワクチン候補抗原 MSP-1 の遺伝的多様性

分担研究者 田辺 和祐 大阪大学微生物病研究所教授

研究要旨

マラリアワクチン候補である熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) メロゾイト表面タンパク質-1 (MSP-1) の遺伝子多様性は有性生殖減数分裂時における対立遺伝子間の組換えによって生じる。有性生殖組換えはマラリア伝播の度合いに依存するので、伝播の高い地域では *mssl* の遺伝的多様度も高いことが予想される。しかし、マラリア伝播度と *mssl* 対立遺伝子多様度の相関はまだほとんど調べられていない。本研究では、伝播度の高いアフリカの熱帯熱マラリア原虫集団と比較的伝播度の低い東南アジア・西太平洋における原虫集団の *mssl* 対立遺伝子多様性を比較した。その結果、マラリア伝播度の高いタンザニアでは予想通り、*mssl* 対立遺伝子多様度は高かった。一方、東南アジア、西太平洋では伝播度と遺伝子多様性に相関は必ずしも認められなかった。この相関のなさの要因は地域によって異なり、地域における *mssl* プロタイプの分布（数と頻度）、異なる *mssl* 対立遺伝子の感染多重度、クロロキン耐性による原虫集団の瓶首効果などが関与することが示唆された。

A. 研究目的

マラリア原虫の遺伝的多様性は、マラリア流行地における地域住民のマラリア感染免疫と病態、薬剤耐性の広がり、また、将来的にはワクチン効果の予測と判定といった事柄と密接に関わる。熱帯熱マラリア原虫メロゾイト表面タンパク質 1 (MSP-1) はマラリアワクチンの有力な候補であるが、その遺伝子 (*mssl*) は多型が激しく、ワクチン開発にとり大きな障害となる。*mssl* の多型は主に蚊ス

テージにおける有性生殖期組換えによって生じる。組換え頻度が高ければ新規対立遺伝子が頻繁に生じる。有性生殖組換えはマラリアの伝播の度合いに依存するので、伝播の高い地域では *mssl* の対立遺伝子多様度も高いことが予想される。しかし、マラリア伝播度と *mssl* 対立遺伝子多様度の相関はこれまでほとんど調べられていない。本研究では、伝播度の高いアフリカの熱帯熱マラリア原虫集団と比較的伝播度の低い東南アジア・西太

平洋における原虫集団の *mssl* 対立遺伝子多様性を *mssl* ハプロタイプで比較検討した。さらに、クロロキン耐性遺伝子 (*pfert*) における多型についても調べ、クロロキン耐性のゲノム多様性に与える影響についても検討した。

B. 研究方法

タンザニアの首都ダルエスサラームの東 150km、インド洋海岸 Rufiji デルタ地域の Nyamisati 村住民を対象に、1993 年 (n=120)、1998 年 (n=132)、2003 年 (n=104) の 3 度、マラリアサーベイが実施され、その際、感染血液がサンプリングされた。この地域のマラリア流行度は通年で holoendemic 地域である。

1997 年 5 - 10 月、フィリピン共和国パラワン島の州都 Puerto Princesa の Palawan Provincial Hospital 及び Malaria Control Service Palawan Office の外来マラリア患者 114 人から感染血液を採取した。

ソロモン諸島ガダルカナル島 (n=90) 及びタイ北西部メソト地区の原虫株 (n=111) はすでに報告している。(Sakihama et al., 2001; Sakihama et al., 2004; Sakihama et al. 2006)

mssl ハプロタイプは我々の PCR タイピング法を用いた。(Sakihama et al., 2006) 5' recombinant type (5' 側可変領域における組換え型)、3' sequence type (3' 側保存領域のシーケンスタイプ) 及び *mssl* ハプロタイプ (両者の組み合

わせ) について調べた。*mssl* 3' 側 (ワクチン候補の 19 kD 断片領域部分) の DNA シーケンスは Big Dye を用いた直接シーケンス法によって得た。対立遺伝子多様度は Nei (1987) の指数 (h) によった。*mssl* における組換え頻度の推定は *mssl* 多型ブロック及び多型塩基サイトの連鎖不平衡解析 R^2 -test によった。

クロロキン耐性遺伝子 (*pfert*) の多型を見るため、同遺伝子第 2 エクソン領域 468 塩基をシーケンスによって調べた。*pfert* は *mssl* ハプロタイプの単独感染株のみについて調べた。

インフォームドコンセントは血液提供者 (児童の場合はその親) から得た。本研究はスウェーデンカロリンスカ大学病院の研究倫理委員会、及び、フィリピンパラワン州保健局の承認を得ている。

C. 研究結果

タンザニア、ソロモン諸島、タイの間では *mssl* ハプロタイプの分布には明らかな地域差が認められた。サンプリングした地域にける患者一人当たりの 5' recombinant type 数の平均値 (感染多重度) はタンザニアでは 3.5 (1993 年)、3.8 (年)、2.7 (年)、パラワンでは 1.4 であった。既報告のタイ、ソロモン諸島ガダルカナルと比較すると、タンザニアとタイ (3.6) は同程度、パラワンとソロモン諸島 (1.4) が同程度であった。多重感染率 (全株中の多重感染株の割合) もタンザニアとタイで高く、パラワンとガダル

カナルで低かった。

mssl ハプロタイプの数 はタンザニアで 20 個 (38 株中、1993 年)、15 個 (23 株中、1998 年)、9 個 (13 株中、2003 年) であった。パラワンでは 15 個 (57 株中)、タイと同レベルで (16 個、48 株中)、ガダルカナルよりも多かった (8 個、47 株中)。*mssl* ハプロタイプの多様度指数 (h) は、タンザニアで非常に高く、 0.94 ± 0.02 (1993 年)、 0.89 ± 0.06 (1998 年)、 0.94 ± 0.05 (2003 年) であった。パラワンの h 0.88 ± 0.02 で、これはタイ (0.89 ± 0.03) と同レベルで、ガダルカナル (0.80 ± 0.03) よりも有意に高かった。

一方、*mssl* 内の多型ブロック/サイトの間の連鎖不平衡は、タンザニアではほとんど認められず、組換え頻度が高いことが推定された。一方、パラワンではガダルカナルと同様に強い連鎖不平衡が認められた。タイにおける連鎖不平衡はタンザニアとパラワン/ガダルカナルの中間であった。

タンザニアにおける 10 年間の *mssl* 多型の推移をみると、個々の多型ブロック及び多型サイト (ブロック 17) における多型の頻度は 10 年間で有意な変化は認められなかったが、*mssl* ハプロタイプの分布は大きく異なっていた。

pfert 遺伝子の多型のシーケンス結果では、パラワンにおいて 39% の割合でクロロキン感受性型が見られた。耐性のタイプはパプアニューギニア型のクロロキ

ン耐性型 (SVMNT) であった。感受性型がまだ残存していたとは、100% の耐性型の分布を示したタイ、ガダルカナルと対照的である。

D. 考察

本研究で用いた *mssl* ハプロタイプの決定法は、異なる *mssl* 対立遺伝子の頻度分布、感染多重度、及び、遺伝子内組換え頻度の推定を可能にする。

mssl ハプロタイプの決定の結果、マラリア伝播度の高いタンザニアでは予想通り、*mssl* 対立遺伝子多様度は高かった。一方、東南アジア、西太平洋では伝播度と遺伝子多様性に相関は認められなかった。すなわち、伝播度の低いタイ、フィリピンでは *mssl* 対立遺伝子多様度は比較的高く、逆に、ソロモンでは伝播度がかかなり高いが、対立遺伝子多様度は低かった。伝播度が中程度のバヌアツでは、対立遺伝子多様度は最も低かった。

本研究から、タンザニアでは組換えにより頻繁に新規の *mssl* ハプロタイプが誕生していることが明らかになった。*P. falciparum* 感染では感染を何度も繰り返すことによって徐々に防御免疫が獲得される。この過程において株特異的免疫が関与すると言われ、この免疫に抗原多型が関わる。本研究から、この株特異的免疫の獲得に組換えによる対立遺伝子多様性の発生が密接に関わっていることが示唆される。一方、ソロモン諸島ではマラリア伝播が強いにもかかわらず感染が比

較的軽症である。ソロモンでは *mssl* ハプロタイプの数に限られ、さらに異なる対立遺伝子型の多重感染も少ないことが本研究で明らかになった。従って、ソロモンでは組換えによる新規対立遺伝子の発生頻度が限られており、そのため同一の対立遺伝子の感染が重なっていることが予想される。このことがひいては株特異的免疫をうまく誘導しているという可能性を示唆する。

東南アジア・西太平洋においては *mssl* 対立遺伝子多様度とマラリア伝播度は必ずしも相関しなかった。この相関のなさの要因は地域によって異なり、地域における *mssl* プロタイプの分布(数と頻度)、異なる *mssl* 対立遺伝子の感染多重度、クロロキン耐性による原虫集団の瓶首効果などが関与することが示唆された。パラワンでは 1997 年の時点においてクロロキン感受性型 *pfert* 遺伝子がまだかなりの頻度で残存していることが明らかになった。島嶼では住民の移動が陸続きの大陸(タンザニアやタイ)と比べて限られており、新規のマラリア原虫遺伝子型の流入が少ないことが予想される。ソロモン諸島では過去においてクロロキンの大量投与が頻繁に行われ、その結果、クロロキン耐性型 *pfert* 遺伝子が 100% になったと考えられる。クロロキン耐性型 *pfert* 遺伝子とリンクしていないゲノム中の遺伝子(*mssl* を含めて)はそれに伴って、大きく減少したことが考えられる。いわゆる“瓶首効果”が働いた結

果、多様性の減少になったと思えるが、パラワンではクロロキンの大量投与はなく、感受性型 *pfert* 遺伝子が残り、ゲノムレベルでも多様性がまだ高く保たれていたと考えられる。この理由により、パラワンではマラリア伝播度が低く、組換え頻度も低いわりには *mssl* 対立遺伝子多様度が比較高く保たれていたことが推定される。

E. 結論

mssl ハプロタイプで見た *P. falciparum* *mssl* の対立遺伝子多様性は全般的な傾向としてマラリア伝播強度に依存して高くなるが、これはすべてのマラリア流行地にはあてはまらない。*mssl* における組換え頻度は伝播強度だけでなく、地域に分布する MSP-1 対立遺伝子の数、及び、多重感染の度合いによっても決定されることを示す。

F. 研究発表

論文発表

1. N. Sakihama, M. Nakamura, A. A. Palanca Jr, R. A. Argubano, E. P. Realon, A. L. Larracas, R. L. Espina, and K. Tanabe (2007) Allelic diversity in the merozoite surface protein 1 gene of *Plasmodium falciparum* on Palawan Island, the Philippines. Parasitol. Int. (in press)

2. K. Tanabe, N. Sakihama, I. Rooth, A. Björkman and A. Färnert. (2007) High frequency of recombination-driven allelic

diversity and temporal variation of *Plasmodium falciparum* in Tanzania. Am. J. Trop. Med. Hyg. (in press)

3. T. Mita, K. Tanabe, N. Takahashi, L. Dysoley, F. Eto, I. Hwaihwanje, H. Ohmae, K. Kita, S. Looareesuwan, A. Kaneko, A. Björkman, and T. Kobayakawa. (2007) Independent unique evolution of pyrimethamine resistance of *P. falciparum* in Melanesia. Antimicrob. Agents Chemother. (in press).

4. M. A. Pacheco, A. C. Poe, W. E. Collins, A. A. Lal, K. Tanabe, V. Udhayakumar, and A. E. Escalante. (2007) A comparative study of the genetic diversity of the 42 kDa fragment of the merozoite surface protein 1 in *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*. Inf. Gen. Evol. 7: 180-187.

5. N. M. Q. Palacpac, B.W.Y. Leung, N. Arisue, K. Tanabe, J. Sattabongkot, T. Tsuboi, M. Torii, R. Udomsangpetch, T. Horii, (2006) *Plasmodium vivax* serine repeat antigen (SERA) multigene family exhibits similar expression patterns in independent infections. Mol. Biochem. Parasitol. 150: 353-358.

6. T. Mita, A. Kaneko, I. Hwaihwanje, T. Tsukahara, N. Takahashi, H. Osawa, K. Tanabe, T. Kobayakawa, and A. Björkman. (2006) Rapid selection of dhfr mutant allele in *P. falciparum* isolates after the introduction of sulfadoxine/pyrimethamine in combination with 4-aminoquinolines in Papua New Guinea. Inf. Gen. Evol. 6: 447-452.

学会発表

1. Kazuyuki Tanabe. Recent evolution of *msp1* polymorphism in *P. vivax*. 41st Japan-US Joint Conference on Parasitic Diseases (Tokyo), 2007.2.2

2. Y. Saito-Nakanol, K. Kamei, M. Iwagami, K. Komaki-Yasuda, S. Kawazu, S. Kano, K. Tanabe, H. Ohmae, T. Endo. Genetic polymorphisms of drug resistant gene in Southeast Asia through imported isolates of *Plasmodium falciparum* in Japan. The 1st Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases (Bangkok), 2007.1.30

3. Kazuyuki Tanabe. Stable antigen polymorphism in modern *Plasmodium falciparum* populations. Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2007, 2007.1.16

4. 早川敏之、Richrad Culleton, 堀井俊宏、田辺和裕、霊長類マラリア原虫とその宿主の進化、第5回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、2006.10.28

5. 西本由利子、有末伸子、川合覚、田辺和裕、橋本哲男、核コード細胞質 SSUrRNA 遺伝子に基づくマラリア原虫 *Plasmodium* 属の系統解析、第5回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム抄録集、2006.10.28

6. 美田敏宏、田辺和裕、大前比呂思、北潔、小早川隆敏、Independent unique evolution of pyrimethamine resistance of *P. falciparum* in Melanesia、第5回分子寄生

虫・マラリア研究フォーラム抄録集、
2006.10.28

7. Richrad Culleton, Matthieu Ndounga, Holger Unger, Richard Carter, Kazuyuki Tanabe, *Plasmodium vivax* in Africa、第5回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、2006.10.28

8. 田辺和裕、先濱直子、I. Rooth, A. Färnert, A. Björkman、平山謙二、現生熱帯熱マラリア原虫集団における抗原多型の進化、第75回 日本寄生虫学会大会、2006.5.19

9. 三井英也、先濱直子、田辺和裕、金子明、川合寛、長谷川政美、橋本哲男、マラリア原虫アピコプラスト DNA の分

子系統、第75回 日本寄生虫学会大会、
2006.5.19

10. 程訓佳、早坂仁、渡辺勝臣、陶艶琳、劉金也、田辺和裕、橘裕司、熱帯熱マラリア原虫の merozoite surface protein-1₉ を認識するヒトモノクローナル抗体 Fab 断片の大腸菌による作製、第75回 日本寄生虫学会大会、2006.5.20

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

IL-18 の *Strongyloides venezuelensis* (Sv) 感染に対する防御機能

分担研究者 中西憲司 兵庫医科大学 免疫学・医動物学教室 教授

研究要旨

Strongyloides venezuelensis (Sv) に感染すると、1) 血中 IgE 値、2) 血中好酸球数、3) 小腸粘膜型肥満細胞 (MMC) 数、4) 小腸杯細胞数が増加するが、これらの宿主応答でどの応答が最も Sv の排除に必要なかを検討した結果、IL-18 で誘導される肥満細胞の活性化が重要であることを明らかにした。

A. 研究目的

寄生虫は単細胞の原虫と多細胞の蠕虫に分けられる。*Leishmania major* (*L. major*) は原虫で、この病原体に感染した宿主は、Th1 宿主応答を発動することで原虫を排除する。一方、蠕虫の排除は様々で極めて複雑である。研究室での蠕虫感染実験によく用いられるのは、*Nippostrongylus brasiliensis* (*Nb*) と *Strongyloides venezuelensis* (*Sv*) である。*Nb* あるいは *Sv* に感染すると、1) 血中 IgE 値、2) 血中好酸球数、3) 小腸粘膜型肥満細胞 (MMC) 数、4) 小腸杯細胞数が増加する。本実験において我々は、*Sv* の排除に必要な宿主応答はなにか、またその応答がどのようなメカニズムで誘導されるのかを検討した。

B. 研究方法

C57BL/6 野生型、あるいは C57BL/6 バック

STAT6^{-/-} マウス、あるいは肥満細胞を欠損した W/W^v マウスに IL-18+IL-2 を投与後、宿主の SV 成虫 1500 隻を外科的に移入し、排虫能力を検討した。あるいは SV の L3 幼虫を感染させ、排虫能力を検討した。
(倫理面の配慮)

マウスの処置はエーテル麻酔下で行なっている。

C. 研究結果

IL-18+IL-2 投与は、IL-4/IL-13 サイトカインシグナルが伝達されない条件下（例えば、Stat6 欠損マウス）でも、上部小腸上皮に MMC を誘導した。そしてこの様なマウスの十二指腸内に *Sv* 成虫を移入させた場合、24 時間後に腸からの排虫は完了していた。一方、IL-18+IL-2 非投与群では、*Sv* 成虫は腸管粘膜に侵入した状態にあった。更に、肥満細胞を欠損した W/W^v マウスに

IL-18+IL-2 を投与後、宿主の排虫能力を検討したが、排虫能力の獲得はなかった。この様な我々の研究から、IL-18 によって誘導される宿主応答の誘導機序の基本的仕組みが解明されるとともに、MMC の活性化機序の詳細が明らかになってきた。

D. 考察

現在まで、蠕虫感染で認める Th2 の誘導機序、また Th2 サイトカインの効果発現機構は不明である。更に、感染に伴い大量に産生される IgG1 と IgE の産生場所、その宿主防御における役割も不明である。蠕虫感染マウスにおける、①Th2 細胞の誘導機序、②MMC の活性化機序、を検討し、IL-18 の刺激を受けた T 細胞由来の IL-3 と IL-9 が、MMC を活性化して SV を排除することが明らかとなった。

E. 結論

Th2 由来のサイトカインで MMC が誘導されることが従来から知られていたが、IL-18 の刺激を受けた T 細胞由来の IL-3 と IL-9 が、MMC を活性化して SV を排除することが明らかとなった。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

論文発表

1. Terada, M., Tsutsui, H., Imai, Y., Yasuda, K., Mizutani, H., Yamanishi, K., Kubo, M., Matsui,

K., Sano, H. and Nakanishi, K. Contribution of interleukin-18 to atopic dermatitis-like skin inflammation induced by *Staphylococcus aureus* product in mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (103, 8816-8821. 2006.)

2. Ishikawa, Y., Yoshimoto, T. and Nakanishi, K. Contribution of IL-18-induced innate T cell activation to airway inflammation with mucus hypersecretion and airway hyperresponsiveness. Int. Immunol. (18, 847-855. 2006.)

3. Murakami, T., Yamanaka, K., Tokime, K., Kurokawa, I., Tsutsui, H., Nakanishi, K. and Mizutani, H. Topical suplastat tosilate (IPD) ameliorates Th2 cytokine-mediated dermatitis in caspase-1 transgenic mice by downregulating interleukin-4 and interleukin-5. Br. J. Dermatol. (155, 27-32. 2006.)

4. Inokuchi, T., Moriwaki, Y., Tsutsui, H., Yamamoto, A., Takahashi, S., Tsutsumi, Z., Ka, T., Nakanishi, K. and Yamamoto, T. Plasma interleukin (IL)-18 (interferon-gamma-inducing factor) and other inflammatory cytokines in patients with gouty arthritis and monosodium urate monohydrate crystal-induced secretion of IL-18. Cytokine. (33, 21-27. 2006.)

5. Arizono, N., Nakanishi, K., Horii, T. and Tanabe, K. Progress in the molecular biology of malaria and the immunology of nematode