

都市部に発生するアカイエカ種群の分子分類および殺虫剤抵抗性に関する研究

分担研究者：小林睦生（国立感染症研究所）

研究協力者：葛西真治，津田良夫，駒形 修、富田隆史（国立感染症研究所）

我が国に生息するアカイエカ種群には、アカイエカ、チカイエカおよびネッタイエカが知られている。これらの蚊の形態的分類は困難で、都市部で発生するアカイエカ等の生態学および生理学的研究はアカイエカ種群として行われてきた。アカイエカ種群のアセチルコリンエステラーゼ(Ace)の塩基配列から分子分類可能なプライマーの設計を行い、分類することが可能となった。この分類法では1匹の蚊の歩脚からのDNA量で充分分類が可能である。この方法によって、野外から採集されたアカイエカ種群の殺虫剤抵抗性を種ごとに調査することが可能となり、チカイエカの一部のコロニーで高いピレスロイド抵抗性が発達していることが明らかとなった。

A. 研究目的

アカイエカ、チカイエカ、ネッタイエカの3種が知られているアカイエカ種群の分子分類を行うことにより、夏期、秋期に屋内で吸血するアカイエカ種群がどの種類であるか、ウエストナイル熱の媒介蚊としてどの種がよりウイルスの伝播に関して重要か、野鳥の吸血嗜好性が高い種はどの種類かなど、基本的な生態学的、生理学的特徴が明らかとなる。今まで、我が国では、これらの分類が出来なかったことから、種ごとの詳細な調査研究が不可能であった。分子分類を行うことによって、より詳細かつ簡便に殺虫剤の抵抗性の発達状況も明らかとなり、媒介蚊の幼虫および成虫の防除対策の立案に貢献すると考えられる。

B. 研究方法

アカイエカ種群の分類

首都圏を中心にドライアイストラップを用いて成虫捕集調査を行い、どのような種類の蚊が捕集されるか予備調査を行った。アカイエカおよびチカイエカの分類は、雄成虫の外部生殖器の形態で分類することが可能であるが、トラップに捕集される蚊の多くは雌成虫で、形態学的分類が困難である。そこで、アカイエカ種群のアセチルコリンエステラーゼ(Ace)の塩基配列を詳細に検討し、3種で異なる塩基配列を特定し、それらの情報を基にアカイエカ、チカイエカ、ネッタイエカ専用のプライマーを設計した。これらのプライマーが適正に働くかは、飼育室で継代飼育されている3種のアカイエカ種群を用いて、PCR法の条件の検討を詳細に行った。

殺虫剤抵抗性に関する調査

フェニトロチオン（有機リン剤）・テメフオス（有機リン剤）、エトフェンプロックス（ピレスロイド剤）、ジフルベンズロン（皮膚形成阻害剤）、ピリプロキシフェン（幼弱ホルモン様剤）の5種類の薬剤に対するアカイエカおよびチカイエカの幼虫の感受性を生物学的検定法によって調査した。用いた濃度は効果的な容量として推奨されている濃度を基準として用い、10倍、100倍の濃度で24時間の死亡率を算出した。また、昆虫発育制御剤である、ジフルベンズロン（皮膚形成阻害剤）およびピリプロキシフェン（幼弱ホルモン様剤）に関しては、蛹化率を求めた。

C. 研究結果

首都圏における蚊成虫の発生状況調査

首都圏の18カ所にドライアイストラップを毎週1回設置し、成虫発生状況を調査した。設置期間は約7ヶ月（5～11月）であったが、捕集総数が100匹以下の場所が多く、3カ所では1,000～1,200匹が捕集された。種構成は、90%以上がアカイエカ種群（アカイエカとチカイエカ）で、残り10%はヒトスジシマカであった。全体としては99%以上がこれら3種を占めていた。

アカイエカ種群の分子分類

アセチルコリンエステラーゼ遺伝子1（ACE1）の遺伝子配列の中で、3種類のアカイエカ種群に変位が認められる部位を塩基配列の解読で明らかにし、その部分の配列でF1457, B1246s, ACEpip2, ACEpall7の4種類のプライマーを設計した。PCR産物はアカイエカ特定のプライマーの場合には730bpと280bpに2本のPCR産物をみとめ、チカイエカ特異的プライマーでは550bpと

730bpにPCR産物を認め、両種を識別できることが明らかとなった。また、ネットアイエカも730bpの1本のバンドを形成するPCR法を確立した。これらマルチプレックスPCR法で、我が国のアカイエカ種群を簡単に識別できる方法を確立した。

殺虫剤抵抗性の発達状況

5種類の作用機作の異なる殺虫剤に関する感受性をアカイエカおよびチカイエカの幼虫を用いて検討した。2種の有機リン剤および2種の昆虫発育制御剤に関して、顕著な抵抗性の発達は認められなかったが、ピレスロイド系殺虫剤であるエトフェンプロックスではチカイエカ7系統（41.2%, 7/17系統）に、アカイエカの15系統（40.5%, 10/37系統）に通常使用される濃度の100倍の濃度においても生存する固体があり、相当高い抵抗性の発達が認められた。

E. 結論

1. 都市部で捕集される蚊成虫はアカイエカ、チカイエカ、ヒトスジシマカの3種類が全体の99%以上を占めた。
2. マルチプレックスPCR法を用い、1匹の蚊の歩脚から抽出したDNAから簡単にアカイエカとチカイエカを識別できる方法を確立した。
3. 都市部に生息するアカイエカ種群にはピレスロイド系殺虫剤に対する抵抗性のコロニーが約40%確認され、幼虫防除を行う場合の薬剤選択時に抵抗性の発達を考慮する必要性を明らかにした。

F. 健康危険情報

特筆なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Higa, Y., Hoshino, K., Tsuda, Y. and Kobayashi, M. (2006). Dry-ice trap and human bait collection of mosquitoes in the eastern part of Hokkaido, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 57: 93-98
- 2) Roychoudhury S, Kobayashi M. (2006) New findings on the developmental process of *Ascogregarina taiwanensis* and *Ascogregarina chulicis* in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 22: 29-36.
- 3) 津田良夫, 比嘉由紀子, 葛西真治, 伊澤晴彦, 星野啓太, 林利彦, 駒形修, 澤邊京子, 佐々木年則, 富田隆史, 二瓶直子, 倉橋弘, 小林睦生. (2006). 成田国際空港近接地と周辺地域の媒介蚊調査. *衛生動物* 57: 211-218.
- 4) 津田良夫, 比嘉由紀子, 倉橋弘, 林利彦, 星野啓太, 駒形修, 伊澤晴彦, 葛西真治, 佐々木年則, 富田隆史, 澤邊京子, 二瓶直子, 小林睦生. (2006) 都市域における疾病媒介蚊の発生状況調査—ドライアイストラップを用いた2年間の調査結果—. *衛生動物* 57: 75-82.
- 5) Kasai, S, Komagata, O, Tomita T, Sawabe K, Tsuda Y, Kurahashi H, Ishikawa T, Motoki M, Takahashi T, Tanikawa T, Yoshida M, Shinjo G, Hashimoto T, Higa Y, Kobayashi M. An improved method to identify *Culex pipiens* complex collected in Japan. *J. Med. Entomol.* (in submitted).

2. 学会発表

(国際学会)

- 1) Roychoudhury S, Isawa H, Hoshino K,

Sasaki T, Sawabe K, Kobayashi M. Protozoan parasite *Ascogregarina* spp.: a fundamental study in the light of using the parasite for the biological control of dengue vector mosquitoes. Symposium: Mosquito Control: lessons from Malaria, dengue, and West Nil fever, The 6th International Congress of Dipterology, September 27, 2006, Fukuoka.

- 2) Tomita T. Insecticide resistance of major West Nile virus-transmitting mosquitoes in Japan. Symposium: Mosquito Control: lessons from Malaria, dengue, and West Nil fever, The 6th International Congress of Dipterology, September 27, 2006, Fukuoka.

- 3) Kasai S, Komagata O, Tsuda Y, Tomita T, Kobayashi M. A simplified molecular identification of the vectors of West Nile fever, *Cx. pipiens* complex collected in Japan. Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases Japan-United States Cooperative Medical Science Program. February 2-3, 2007, Tokyo.

(国内学会)

- 1) 津田良夫, 比嘉由紀子, 澤邊京子, 村田浩一, 佐藤雪太, 松本令以, 植田美弥, 長塚信幸. 首都圏動物園および水族館における蚊の発生状況調査. 第58回日本衛生動物学会大会, 18年4月6-8日, 長崎市.

- 2) 津田良夫, 比嘉由紀子, 葛西真治, 澤邊京子. アカイエカ群の個眼数に見られる季節変異と地理的変異. 第58回日本衛生動物学会大会, 18年4月6-8日, 長崎市.

- 3) 吉田政弘, 山下敏夫, 小林睦生. 大阪市内の冬期におけるアカイエカ群について. 第58回日本衛生動物学会大会, 18年4月6-8日, 長崎市.

- 4) 二瓶直子, 津田良夫, 駒形修, 望月貴

一郎，小林睦生．都市地理情報を用いた首都圏の疾病媒介蚊の生息予測．第 58 回日本衛生動物学会大会，18 年 4 月 6-8 日，長崎市．

5) 駒形 修，葛西真治，正野俊夫，富田隆史．マイクロアレイ法を用いたシトクロム P450 解析（1）：ピレスロイド剤抵抗性ネッタイエカの遺伝子発現．第 58 回日本衛生動物学会大会，18 年 4 月 6-8 日，長崎市．

6) 葛西真治，駒形 修，正野俊夫，富田隆史．マイクロアレイ法を用いたシトクロム P450 解析（2）：ピレスロイド剤抵抗性アカイエカおよびチカイエカの遺伝子発現．第 58 回日本衛生動物学会大会，18 年 4 月 6-8 日，長崎市．

7) 橋本知幸，新庄五朗，富田隆史，葛西真治．ピレスロイド剤抵抗性アカイエカの蚊取り剤使用環境下での吸血行動の実験的検証．第 58 回日本衛生動物学会大会，18 年 4 月 6-8 日，長崎市．

8) 内海与三郎，釜田 壹，古田真也，亀井正治，吉田政弘，山下敏夫，小林睦生．雨水枡および浄化槽に生息するアカイエカ群に対するピリプロキシフェン含有発泡錠剤の防除効果．第 58 回日本衛生動物学会大会，18 年 4 月 6-8 日，長崎市．

9) 葛西真治，駒形 修ら．有機リン剤抵抗性チカイエカで高発現するグルタチオン S トランスフェラーゼ．第 51 回日本応用動物昆虫学会，19 年 3 月 27-29 日，東広島市．

2. 実用新案登録

(無し)

3. その他

(無し)

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

(無し)

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

ワクチン分子の無細胞系合成システムの確立に関する研究

分担研究者 坪井敬文 愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター教授

研究要旨 マラリア発病阻止ワクチンは、赤血球への侵入型であるメロゾイト期原虫に特異的に発現するタンパク質を標的とし、ヒト血流中で原虫の生活環を断つワクチンである。ところが、既知の熱帯熱マラリア発病阻止ワクチン候補分子で現在臨床試験中のものは4種しかない。そこで我々は、新規発病阻止ワクチン候補分子を探索するために、コムギ胚芽無細胞系を用いて200種余りのメロゾイト期原虫特異分子の組換えタンパク質を発現し、その中から新規のワクチン抗原を同定することを目的に本研究を実施した。コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて、熱帯熱マラリア原虫メロゾイト期タンパク質のゲノムワイドな発現をするために、マラリアゲノム情報データベース（PlasmoDB）より、メロゾイト期にのみ発現が示唆されている遺伝子を192種を抽出し、そのcDNAクローニングを行った。次にこれらのcDNAクローンからコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて組換えタンパク質を発現した。現在までに150種あまりのcDNAクローンを得た。次いでこれらをコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系により発現した結果、現在までに149種の組み換えタンパク質を発現することに成功した。今後、これらの組換えタンパク質と患者血清を用いることにより、新規マラリア発病阻止ワクチン候補分子がゲノムワイドに探索可能と考えられる。

A. 研究目的

マラリア発病阻止ワクチンは、赤血球への侵入型であるメロゾイト期原虫に特異的に発現するタンパク質を標的とし、ヒト血流中で原虫の生活環を断つワクチンである。ところが、既知の熱帯熱マラリア発病阻止ワクチン候補分子で現在臨床試験中のものは4種しかない。そこで我々は、新規発病阻止ワクチン候補分子を探索するために、コムギ胚芽無細胞系を用いて200種余りのメロゾイト期原虫特異分子の組換えタンパク質を発現し、

その中から新規のワクチン抗原を同定することを目的に本研究を実施した。

B. 研究方法

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて、熱帯熱マラリア原虫メロゾイト期タンパク質のゲノムワイドな発現をするために、マラリアゲノム情報データベース（PlasmoDB）より、メロゾイト期にのみ発現が示唆されている遺伝子を192種を抽出し、そのcDNAクローニングを行った。次にこれらのcDNAクローンから

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて組換えタンパク質を発現した。

C. 研究結果および考察

現在までに 150 種あまりの cDNA クローンを得た。次いでこれらをコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて発現した結果、現在までに 149 種の組換えタンパク質を発現することに成功した。

今後、上記の組換えタンパク質と流行地住民から得られたマラリア免疫医血清を用いて、高感度かつハイスループットの抗原抗体反応検出系を確立し、新規ワクチン候補抗原分子の探索を実施する予定である。

D. 結論

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いることにより、熱帯熱マラリア原虫メロゾイト期の組換えタンパク質をゲノムワイドに発現することに成功した。これらの組換えタンパク質と患者血清を用いることにより、新規発病阻止ワクチン候補抗原のスクリーニングがゲノムワイドに可能と考えられた。

E. 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. 2006, 148:44-51.

- 2) Kaneko O, Templeton TJ, Iriko H, Tachibana M, Otsuki H, Takeo S, Sattabongkot J, Torii M, Tsuboi T.

The *Plasmodium vivax* homolog of the ookinete adhesive micronemal protein, CTRP.

Parasitol. Int. 2006, 55:227-231.

- 3) Palacpac NM, Leung BW, Arisue N, Tanabe K, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M, Udomsangpetch R, Horii T.

Plasmodium vivax serine repeat antigen (SERA) multigene family exhibits similar expression patterns in independent infections.

Mol. Biochem. Parasitol. 2006, 150:353-358.

- 4) Han ET, Lee DH, Park KD, Seok WS, Kim YS, Tsuboi T, Shin EH, Chai JY.

Reemerging vivax malaria: changing patterns of annual incidence and control programs in the Republic of Korea.

Korean J. Parasitol. 2006, 44:285-294.

2. 学会発表

- 1) Han ET, Watanabe R, Sattabongkot J, Khuntirat B, Sirichaisinthop J, Takeo S,

Tsuboi T.

Detection of four *Plasmodium* species by genus- and species-specific loop-mediated isothermal amplification for clinical malaria patients.

- ASTMH 55th annual meeting, Atlanta, GA, USA, November 12-16, 2006.
- 2) Takeo S, Jin L, Sakamoto H, Han ET, Iriko H, Kaneko O, Torii M, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Sawasaki T, Endo Y, Tsuboi T.
Discovering novel blood stage malaria vaccine candidates: screening with immune sera from falciparum malaria patients and asymptomatic parasite carriers.
ASTMH 55th annual meeting, Atlanta, GA, USA, November 12-16, 2006.
- 3) Tsuboi T. (Invited Symposist)
Malaria vaccine development: recombinant protein expression platforms. Cell-free expression system.
ASTMH 55th annual meeting, Atlanta, GA, USA, November 12-16, 2006.
- 4) Aguiar JC, Iriko H, Huang F, Sacci JB, Juompan L, Jin L, Han ET, Takeo S, Krzych U, Endo Y, Richie T, Tsuboi T.
Discovering novel malaria pre-erythrocytic antigens.
ASTMH 55th annual meeting, Atlanta, GA, USA, November 12-16, 2006.
- 5) Abot E, Ganeshan H, Banania G, Richie N, Takeo S, Tsuboi T, Sedegah M, Richie T, Doolan D, Weiss W, Jiang G.
Induction in Rhesus monkeys of antigen-specific T cell responses to all vaccine components (CSP, AMA1, SSP2 and MSP1) of a multi-stage *Plasmodium knowlesi* vaccine administered by prime/boost immunization.
ASTMH 55th annual meeting, Atlanta, GA, USA, November 12-16, 2006.
- 6) 大槻均、金子修、入子英幸、竹尾暁、坪井敬文、鳥居本美
ネズミマラリア原虫の赤血球結合分子相同体 EBL の局在と病原性
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 7) 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(TPx-1) ノックアウトがマラリア原虫のオーシスト発育に及ぼす影響の解析
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 8) 入子英幸、竹尾暁、金玲、大槻均、金子修、鳥居本美、坪井敬文
コムギ胚芽無細胞系を用いた新マラリア伝搬阻止ワクチン候補抗原の探索
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 9) 竹尾暁、金玲、韓銀澤、入子英幸、金子修、鳥居本美、坪井敬文
熱帯熱マラリア原虫新規赤血球型ワクチン候補抗原分子の探索
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 10) 仲本賢太郎、坪井敬文、所正治、野

- 崎智義
赤痢アメーバにおける S-adenosyl-l-methionine synthase および S-adenosyl-l-homocysteine hydrolase の解析
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 11) 鳥川行雄、竹尾暁、坪井敬文、新川武、辻尚利、林良博、松本安喜
コムギ胚芽無細胞蛋白合成系によるブタ回虫感染防御抗原 As16 の産生及び、その防御効果の検討
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 12) 荒井朋子、仲本賢太郎、木俣勲、北出幸夫、坪井敬文、所正治
リアルタイム PCR を用いたアデノシンアナログのクリプトスポリジウム増殖抑制効果の評価
第 75 回日本寄生虫学会大会、弘前、5/19-20、2006。
- 13) 坪井敬文、竹尾暁、入子英幸、大槻均、金子修、鳥居本美
ポストゲノム最大の挑戦：熱帯熱マラリア原虫の組換えタンパク質発現
第 14 回分子寄生虫学ワークショップ、草津、7/25-28、2006。
- 14) 竹尾暁、金玲、韓銀澤、入子英幸、金子修、鳥居本美、坪井敬文
熱帯熱マラリアの新規ワクチンをめざした組換えタンパク質合成とスクリーニング
第 14 回分子寄生虫学ワークショップ、草津、7/25-28、2006。
- 15) 入子英幸、大槻均、金子修、竹尾暁、福本宗嗣、鳥居本美、坪井敬文
ネズミマラリア原虫モデルを用いた新規伝搬阻止ワクチン候補抗原の性状解析
第 14 回分子寄生虫学ワークショップ、草津、7/25-28、2006。
- 16) 竹尾暁、金玲、韓銀澤、入子英幸、金子修、鳥居本美、坪井敬文
熱帯熱マラリアの新規ワクチンをめざす多種類組換えタンパク質の合成とスクリーニング
第 5 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、東京、10/28-29、2006。
- 17) 坪井敬文、入子英幸、竹尾暁、金玲、韓銀澤、大槻均、金子修、鳥居本美、コムギ胚芽無細胞系を用いた新規マラリア伝搬阻止ワクチン候補抗原の探索
第 5 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、東京、10/28-29、2006。
- 18) Han ET, Watanabe R, Sattabongkot J, Khuntirat B, Sirichaisinthop J, Iriko H, Jin L, Takeo S, Tsuboi T.
Clinical detection of four Plasmodium species by genus- and species-specific loop-mediated isothermal amplification.
Forum Cheju-12, The 12th Korea-Japan Parasitologist's Seminar, Tokyo, Japan, November 5-7, 2006.
- F. 知的財産権の出願・登録状況
特記すべきものはない

寄生虫症 DNA ワクチンの研究

分担研究者 久枝 一 九州大学医学研究院助教授

研究要旨 マラリア原虫の免疫回避は有効なワクチンの開発を困難にしており、その機構を理解することはワクチン開発にとっては非常に重要であると思われる。本研究ではマウスマラリアモデルにおいてマラリア原虫がトリプトファン代謝を活性化することで免疫抑制を起こしていることを明らかにした。

A. 研究目的

マラリアは今もなお人類の脅威となる感染症であり早急な対策が望まれている。なかでもマラリアワクチンの開発は精力的に行われているが現在の所有効なものは得られていない。マラリアワクチンの開発が困難にしているのは、マラリア原虫が持つ巧みな免疫回避機構である。感染流行地域で幾度となく感染を受けても、終生免疫を得られず感染を繰り返すという事実からもマラリア患者では免疫が働いていないことが容易に推測される。従って、ワクチンの開発にはマラリア原虫の免疫回避機構を知り、それをコントロールすることが非常に重要な戦略となりうる。我々はこれまでもマウスマラリアモデルを用いて種々の免疫回避機構を明らかにしてきたが、本報告では新たな免疫回避機構としてトリプトファン代謝に関わる免疫抑制機構について検討した。

B. 研究方法

純系マウスにネズミマラリア原虫 *P. yoelii* 17XL 株、XNL 株感染赤血球を腹腔内感染させた。感染後経日的に血液薄層塗沫にて虫血症率を測定、また生存率を観察した。トリプトファン代謝を評価するために、血清、脾臓中のトリプトファン、その代謝産物であるキヌレニンの濃度を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。トリプトファン代謝の律速酵素、インドールアミンジオキシゲナーゼ (IDO) の拮抗阻害薬である 1-メチルトリプトファン (1-MT) を感染経過中に飲水にて投与した。感染マウスの脾臓中の T 細胞の免疫応答も解析した

全ての動物実験は九州大学倫理委員会の承認を得た後、ガイドラインに従って行われた。

C. 結果および考察

マウスに *P. yoelii* を感染させると XL 株は致死感染を、XNL 株は一過性の感染を起こした。いずれの感染でもトリプトファンは減少しキヌレニンが増加しており、トリプトファン代謝がマラリア原虫の感染により亢進していることが示された。ここで見られた誘導性のトリプトファンを触媒するのは IDO であるので、感染により IDO が活性化されたことが示唆された。そこで IDO 阻害剤、1-MT を投与したマウスでの感染実験を行った。阻害剤の投与により感染によるトリプトファン代謝の亢進は見られなくなった。XNL 株の感染動態は阻害剤の投与で全く変化しなかった。XL 株の感染では致死性は変化しなかったが、虫血症率が部分的に、とくに感染早期に抑制された。1-MT 自体には原虫に対する毒性がないことが確認できたので、1-MT による感染の改善は宿主免疫応答の増強によることが示唆された。実際にこれら感染マウスの免疫応答を解析したところ、1-MT 投与マウスでは非投与マウスに比べて、T 細胞のマラリア原虫に対する増殖応答、IFN- γ 産生能が高かった。

D. 考察

以上の結果よりマラリア原虫の免疫回避にトリプトファン関連免疫抑制が関わっていることが示された。IDO は免疫発動に重要な役割を果たす樹状細胞に発現することが想定されるが、マラリア原虫がいかんして樹状細胞に IDO を誘導するのかわ不明である。また、この知見を生かすためには、感染マウスにトリプトファンをサプリメント的に与えることで病状が回復するのか、などの検討が必要であろう。今後はこれらの課題についても検討する予定である。

E. 結論

マラリア原虫はIDOを活性化し、トリプトファン代謝を亢進することで部分的にはあるが宿主免疫抑制していることが明らかとなった。

F. 論文発表

Tetsutani K, To H, Torii M, Hisaeda H, Himeno K. Malaria parasite induces tryptophan-related immune suppression in mice. *Parasitology*, in press

Coban C, Ishii KJ, Uematsu S, Arisue N, Sato S, Yamamoto Y, Kawai T, Takeuchi O, Hisaeda H, Horii T, Akira S. Pathological role of Toll-like receptor signaling in cerebral malaria. (2007) *Int. Immunol.* 19: 67-79.

Inagaki-Ohara K, Dewi FN, Hisaeda H, Smith AL, Jimi F, Miyahira M, Abdel-Aleem ASF, Horii Y, Nawa Y. Intestinal intraepithelial lymphocytes sustain the epithelial barrier function against *Eimeria vermiformis* infection. *Infect. Immun.* (2006) 74: 5292-5301.

Koga R, Hamano S, Kuwata H, Atarashi K, Ogawa M, Hisaeda H, Yamamoto M, Himeno K, Matsumoto M, Takeda K. TLR-dependent induction of IFN- β mediates host defense against *Trypanosoma cruzi*. *J. Immunol.* (2006) 177: 7059-7066.

Ishii K, Hisaeda H, Duan X, Imai T, Sakai T, Fehling HJ, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Hamano S, Sano M, Yano A, Himeno K. The involvement of immunoproteasomes in induction of MHC class I-restricted immunity against *Toxoplasma* SAG1. *Microbe. Infect.* (2006) 8: 1045-1053.

Duan X, Hisaeda H, Shen J, Tu L, Imai T, Chou B, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Fehling HJ, Koga T, Sueishi K, Himeno K. The ubiquitin-proteasome system plays essential roles in presenting an 8-mer CTL epitope expressed in APC to corresponding CD8⁺ T cells. *Int. Immunol.* (2006) 18: 679-687.

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

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
Alhassan A, Thekiso OM, Yokoyama N, Inoue N, Motloang MY, Mbat PA, Yin H, Katayama Y, Anzai T, Sugimoto C, Igarashi I.	Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for diagnosis of equine piroplasmosis.	Vet Parasitol	143	155-160	2007
Arita M, Suematsu T, Osanai A, Inaba T, Kamiya H, Kita K, Sisido M, Watanabe Y Ohtsuki T.	An evolutionary 'intermediate state' of mitochondrial translation systems found in <i>Trichinella</i> species of parasitic nematodes: co-evolution of tRNA and EF-Tu.	Nucleic Acids Res.	34	5291-5299	2006
Bork S, Das S, Okubo K, Yokoyama N, Igarashi I.	Effects of protein kinase inhibitors on the in vitro growth of <i>Babesia bovis</i> .	Parasitology	132	775-779	2006
Clark CG, Alsmark UCM, Hofer M, Saito-Nakano Y, Ali V, Marion S, Weber C, Mukherjee C, Bruchhaus I, Tannich E, Leippe M, Sicheriz-Ponten	Structure and content of the <i>Entamoeba histolytica</i> genome				

T, Foster PG, Samuelson J, Noel CJ, Hirt RP, Embley M, Gilchrist CA, Mann BJ, Singh U, Ackers JP, Bhattacharya S, Bhattacharya A, Lohia A, Guillen N, Duchene M, Nozaki T, Hall N					
Coban C, Ishii KJ, Uematsu S, Arisue N, Sato S, Yamamoto M, Kawai T, Taeuchi O, Hisada H, Horii T, Akira S	Pathological role of Toll-like receptor signaling in cerebral malaria	International Immunology	19	67-79	2006
Duan X, Hisada H, Shen J, Tu L, Imai T, Chou B, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Fehling HJ, Koga T, Sueishi K, Himeno K	The ubiquitin-proteasome system plays essential roles in presenting an 8-mer CTL epitope expressed in APC to corresponding CD8 ⁺ T cells	International Immunology	18	679-687	2006
Ghoneim A, Kaneko O, Tsuboi T, Torii M.	The <i>Plasmodium falciparum</i> RhopH2 promoter and first 24 amino acids are sufficient to target proteins to the rhoptries.	Parasitol Int	56	31-43	2007

Han ET, Lee DH, Park KD, Seok WS, Kim YS, Tsuboi T, Shin EH, Chai JY	Reemerging vivax malaria: changing patterns of annual incidence and control programs in the Republic of Korea	Kr J Parasitol	44	285-294	2006
Huang X, Xuan X, Verdida RA, Zhang S, Yokoyama N, Xu L, Igarashi I.	Immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of <i>Babesia caballi</i> and <i>B. equi</i> infections in horses.	Clin Vaccine Immunol	140	158-161	2006
Huang X, Xuan X, Yokoyama N, Katayama Y, Anzai T, Igarashi I	Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays with recombinant antigens for the serodiagnosis of equine <i>Babesia</i> infections	Vet Parasitol	140	158-161	2006
Iizumi K, Mikami Y, Hashimoto M, Nara T, Hara Y, Aoki T.	Molecular cloning and characterization of ouabain-insensitive Na(+)-ATPase in the parasitic protist, <i>Trypanosoma</i> <i>cruzi</i> .	Biochim Biophys Acta.	1758	738-746	2006
Inagaki-Ohara K, Dewi FN, Hisaeda H, Smith AL, Jimi F, Miyahira M, Abdel-Aleem AS, Horie Y, Nawa Y.	Intestinal intraepithelial lymphocytes sustain the epithelial barrier function against <i>Eimeria vermiformis</i> infection.	Infect Immun	74	5292-53 01	2006
Inokuchi T, Moriwaki Y, Tsutsui H, Yamamoto A, Takahashi S, Tsutsumi Z, Ka T, Nakanishi K,	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

Yamamoto T.					
Ishii K, Hisaeda H, Duan X, Imai T, Sakai T, Fehling HJ, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Hamano S, Sano M, Yano A, Himeno K.	The involvement of immunoproteasomes in induction of MHC class I-restricted immunity targeting <i>Toxoplasma</i> SAG1.	Microbes Infect	8	1045-1053	2006
Ishikawa Y, Yoshimoto T, 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
Kaneko O, Templeton TJ, Iriko H, Tachibana M, Otsuki H, Takeo S, Sattabongkot J, Torii M, Tsuboi T.	The <i>Plasmodium vivax</i> homolog of the ookinete adhesive micronemal protein, CTRP.	Parasitol Int.	55	227-231	2006
Kobayashi T, Sato S, Takamiya S, Komaki-Yasuda K, Yano K, Hirata A, Onitsuka I, Hata M, Mi-Ichi F, Tanaka T, Hase T, Miyajima A, Kawazu S,	Mitochondria and apicoplast of <i>Plasmodium falciparum</i> : Behaviour on subcellular fractionation and the implication.	Mitochondrion	7	125-132	2007

Watanabe Y, Kita K.					
Koga R, Hamano S, Kuwata H, Atarashi K, Ogawa M, Hisada H, Yamamoto M, Akira S, Himeno K, Matsumoto M, Takeda K	TLR-dependent induction of IFN- β mediates host defense against <i>Trypanosoma cruzi</i>	J Immunol	177	7059-7066	2006
Kojima S, Aoki Y, Ohta N, Tateno S, Takeuchi T.	School-health-based parasite control initiatives: extending successful Japanese policies to Asia and Africa.	Trends Parasitol	23	54-57	2007
Kumagai T, Osada Y, Kanazawa	2-Cys peroxiredoxins from <i>Schistosoma japonicum</i> : the expression profile and localization in the life cycle.	Mol Biochem Parasitol	149	135-143	2006
Mi-Ichi F, Kita K, Mitamura T.	Intraerythrocytic <i>Plasmodium falciparum</i> utilize a broad range of serum-derived fatty acids with limited modification for their growth.	Parasitology.	133	399-410	2006
Mita T, Kaneko A, Hwaihwanje I, Tsukahara T, Takahashi N, Osawa H, Tanabe K, Kobayakawa T, Bjorkman A	Rapid selection of dhfr mutant allele in <i>Plasmodium falciparum</i> isolates after the introduction of sulfadoxine/pyrimethamine in combination with 4-aminoquinolines in Papua New Guinea.	Infect Genet Evol.	6	447-452	2006
Mita T, Tanabe K, Takahashi N, Tsukahara T, Eto	Independent evolution of pyrimethamine resistance in <i>Plasmodium falciparum</i> isolates in	Antimicrob Agents Chemother.	51	1071-1077	2007

H, Dysoley L, Ohmae H, Kita K, Krudsood S, Looareesuwan S, Kaneko A, Bjorkman A, Kobayakawa T.	Melanesia.				
Miura S, Tomitsuka E, Kamei Y, Yamazaki T, Kai Y, Tamura M, Kita K, Nishino I, Ezaki O.	Overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator-1alpha leads to muscle atrophy with depletion of ATP.	Am J Pathol.	169	1129-11 39	2006
Murakami T, Yamanaka K, Tokime K, Kurokawa I, Tsutsui H, Nakanishi K, Mizutani H.	Topical suplatast 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
Nara T, Iizumi K, Ohmae H, Sy O, Tsuboi S, Inaba Y, Tsubouchi A, Tanabe M, Kojima S, Aoki T	Antibody isotype responses to paramyosin, a vaccine candidate for schistosomiasis, and their correlations with resistance and fibrosis in patients infected with <i>Schistosoma japonicum</i> in Leyte, the Philippines	Am J Trop Med Hyg	76	384-391	2007
Nishida S, Kurokawa K, Matsuo M, Sakamoto K, Ueno K, Kita K, Sekimizu K.	Identification and characterization of amino acid residues essential for the active site of UDP-N- acetylenolpyruvylglucosamine reductase (MurB) from <i>Staphylococcus aureus</i> .	J Biol Chem.	281	1714-17 24	2006

Okada M, Huston CD, Oue M, Mann BJ, Petri WA, Jr., Kita K, Nozaki T.	Kinetics and strain variation of phagosome proteins of <i>Entamoeba</i> <i>histolytica</i> by proteomic analysis.	Mol Biochem Parasitol.	145	171-183	2006
Okubo K, Wilawan P, Bork S, Okamura M, Yokoyama N, Igarashi I.	Calcium-ions are involved in erythrocyte invasion by equine <i>Babesia</i> parasites.	Parasitology	133	289-294	2006
Pacheco MA, Poe AC, Collins WE, Lal AA, Tanabe K, Kariuki SK, Udhayakumar V, Escalante AA.	A comparative study of the genetic diversity of the 42kDa fragment of the merozoite surface protein 1 in <i>Plasmodium falciparum</i> and <i>P. vivax</i> .	Infect Genet Evol.	7	180-187	2007
Palacpac NM, Leung BW, Arisue N, Tanabe K, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M, Udomsangpetc R, Horii T.	<i>Plasmodium vivax</i> serine repeat antigen (SERA) multigene family exhibits similar expression patterns in independent infections.	Mol Biochem Parasitol.	150	353-358	2006
Sakihama N, Nakamura M, Palanca AA, Jr., Argubano RA, Realon EP, Larracas AL, Espina RL, Tanabe K.	Allelic diversity in the merozoite surface protein 1 gene of <i>Plasmodium</i> <i>falciparum</i> on Palawan Island, the Philippines.	Parasitol Int.		In press	2007

Sariego I, Annoura T, Nara T, Hashimoto M, Tsubouchi A, Iizumi K, Makiuchi T, Murata E, Kita K, Aoki T.	Genetic diversity and kinetic properties of <i>Trypanosoma cruzi</i> dihydroorotate dehydrogenase isoforms.	Parasitol Int	55	11-16	2006
Shaohong L, Kumagai T, Qinghua A, Xiaolan Y, Ohmae H, Yabu Y, Siwen L, Liyong W, Maruyama H, Ohta N.	Evaluation of the anthelmintic effects of artesunate against experimental <i>Schistosoma mansoni</i> infection in mice using different treatment protocols.	Parasitol Int.	55	63-68	2006
Shigeno S, Fujimaki Y, Toriyama K, Ichinose A, Mitsui Y, Aoki Y, Kimura E.	Temporary shift of microfilariae of <i>Brugia pahangi</i> from the lungs to muscles in Mongolian jirds, <i>Meriones unguiculatus</i> , after a single injection of diethylcarbamazine.	J Parasitol	92	1075-10 80	2006
Shinryo N, Kita K.	Up-regulation of heme biosynthesis during differentiation of Neuro2a cells	J Biochem (Tokyo).	139	373-381	2006
Suzuki T, Osada Y, Kumagai T, Hamada A, Okuzawa E, Kanazawa T.	Early detection of <i>Schistosoma mansoni</i> infection by touchdown PCR in a mouse model.	Parasitol Int	55	213-218	2006
Takeuchi S, Li Y, He Y, Zhou H, Moji K, Ohtsuka R, Watanabe C	Behaviors associated with water contact and <i>Schistosoma japonicum</i> infection in rural village, the Dongting Lake region, China	Trop Med Health	34	117-123	2006

Tanabe K, Sakihama N, Rooth I, Bjorkman, A, Farnert A	High frequency of recombination-driven allelic diversity and temporal variation of <i>Plasmodium falciparum</i> MSP1 in Tanzania	Am J Trop Med Hyg		In press	2007
Terada M, Tsutsui H, Imai Y, Yasuda K, Mizutani H, Yamanishi K, Kubo M, Matsui K, Sano H, Nakanishi K.	Contribution of IL-18 to atopic-dermatitis-like skin inflammation induced by <i>Staphylococcus aureus</i> product in mice.	Proc Natl Acad Sci U S A	103	8816-8821	2006
Ui H, Shiomi K, Suzuki H, Hatano H, Morimoto H, Yamaguchi Y, Masuma R, Sakamoto K, Kita K, Miyoshi H, Tomoda H, Tanaka H, Omura S.	Paecilaminol, a new NADH-fumarate reductase inhibitor, produced by <i>Paecilomyces</i> sp. FKI-0550.	J Antibiot (Tokyo).	59	591-596	2006
Ui H, Shiomi K, Suzuki H, Hatano H, Morimoto H, Yamaguchi Y, Masuma R, Sunazuka T, Shimamura H, Sakamoto K, Kita K, Miyoshi H,	Verticipyrone, a new NADH-fumarate reductase inhibitor, produced by <i>Verticillium</i> sp. FKI-1083.	J Antibiot (Tokyo)	59	785-790	2006

Tomoda H, Omura S.					
Yabu Y, Suzuki T, Nihei C, Minagawa N, Hosokawa T, Nagai K, Kita K, Ohta N.	Chemotherapeutic efficacy of ascofuranone in <i>Trypanosoma vivax</i> -infected mice without glycerol.	Parasitol Int.	55	39-43	2006
Yamauchi J, Kawai Y, Yamada M, Uchikawa R, Tegoshi T, Arizono N.	Altered expression of goblet cell- and mucin glycosylation-related genes in the intestinal epithelium during infection with the nematode <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> in rat.	APMIS	114	270-278	2006
Yano K, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S, Kawazu S.	2-Cys Peroxiredoxin TPx-1 is involved in gametocyte development in <i>Plasmodium berghei</i> .	Mol Biochem Parasitol	148	44-51	2006
Yokoyama N, Okamura M, Igarashi I.	Erythrocyte invasion by <i>Babesia</i> parasites: current advances in the elucidation of the molecular interactions between the protozoan ligands and host receptors in the invasion stage.	Vet Parasitol	138	22-32	2006