

厚生労働科学研究費補助金  
社会保障国際協力推進研究事業

寄生虫疾患の病態解明及び  
その予防・治療をめざした研究

(H19-国医-指定-004)

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任責任者 平 山 謙 二

平成20 (2008) 年 3 月

# 目 次

## I. 総括研究報告書

寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめざした研究

平山 謙二 . . . . . 1

## II. 分担研究報告書

1. 住血吸虫症の免疫遺伝学的解析	平山 謙二 . . . . . 28
2. 原虫症治療標的分子の機能解析	北 潔 . . . . . 31
3. マラリアの病態解明と予防・治療戦略開発に関する研究	狩野 繁之 . . . . . 36
4. 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	坪井 敬文 . . . . . 38
5. 赤痢アメーバの病原機構の解明	野崎 智義 . . . . . 43
6. フィラリア症の疫学研究	木村 栄作 . . . . . 45
7. フィラリアと媒介昆虫の相互関係の解明	辻 尚利 . . . . . 49
8. 日本住血吸虫症の病態発現分子解析	太田 伸生 . . . . . 51
9. 住血吸虫の防御免疫・病態生理の解明	金澤 保 . . . . . 54
10. リーシュマニア症対策疫学研究	我妻ゆき子 . . . . . 57
11. マラリア原虫の宿主細胞認識と侵入機序の解析	鳥居 本美 . . . . . 59
12. 熱帯熱マラリア原虫の抗原多型に関する集団遺伝学的解析	田邊 和祐 . . . . . 63
13. 寄生虫症の免疫病理学	中西 憲司 . . . . . 69

14. ハマダラカにおけるキサントレン酸産生の制御とマラリア伝播性の抑制	松岡 裕之 . . . . .	76
15. マラリアにおける宿主病原体相互関係の解析	久枝 一 . . . . .	77
16. マラリア感染によるT細胞免疫反応の修飾と免疫記憶の成立	由井 克之 . . . . .	79
17. マラリア原虫の細胞侵入動態の解析	金子 修 . . . . .	81
18. マラリア原虫に有効な新規阻害剤の探索	金 惠淑 . . . . .	83
19. 住血原虫症の分子疫学と薬用植物に含まれる抗住血原虫活性物質の探索	片倉 賢 . . . . .	89
20. トリパノソーマの防御応答回避メカニズムの解析	嶋田 淳子 . . . . .	91
21. 人獣共通寄生虫病の血清診断システムの開発と病態解明	丸山 治彦 . . . . .	92
22. 住血原虫症の診断学	五十嵐郁男 . . . . .	95
23. 住血吸虫症の病態・診断・疫学	大前比呂思 . . . . .	98
24. 人獣共通寄生原虫・蠕虫症の寄生適応に関する分子生物学的解析	奈良 武司 . . . . .	101
25. 都市部でのヒトスジシマカの発生状況と年間世代数の推定	小林 睦生 . . . . .	102
<b>III. 研究成果の刊行に関する一覧表</b>	. . . . .	110
<b>IV. 研究成果の刊行物・別刷り</b>	. . . . .	132

厚生労働科学研究費補助金（社会保障国際協力推進研究事業）  
総括研究報告書

寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめざした研究  
主任研究者 平山謙二 長崎大学熱帯医学研究所教授

研究要旨 アジア地域は多様な地理的環境と多様な民族により構成されているが、東南アジアを中心に熱帯地域が広がっている。これらの地域ではいまだに寄生虫感染症の患者が多数存在し、住民の健康に重大な影響を与えているばかりでなく、社会経済学的な影響も大きい。これら主要な寄生虫疾患の制圧を目指した新たな治療・予防法の開発を最終目標として、疾患別にグループを組み、各疾患の制圧を目指した基礎研究から応用研究を幅広く行い、真に地域の健康増進に資する研究を推進した。対象とした寄生虫疾患あるいは領域は以下のものである。（１）マラリア、（２）住血吸虫症、（３）フィラリア症、（４）住血原虫症（トリパノソーマ、リーシュマニア症など）、（５）新興・再興感染症（腸管寄生原虫症、腸管寄生ぜん虫症、エキノコックス症、人獣共通感染症など）、（６）媒介昆虫領域である。上記の対象疾患の制圧に資する学術的な知見を得るために以下のようなアプローチで多様な研究を展開した。a) 保有宿主や媒介動物を含めた感染動態や伝播経路に関わる基礎研究、b) 病原体の寄生適応の分子メカニズム、c) ヒトの防御免疫および病態生理。

分担研究者名

北 潔 東京大学大学院・医学系研究科・教授  
狩野繁之 国立国際医療センター研究所・部長  
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  
野崎智義 群馬大学大学院医学系研究科・教授  
木村英作 愛知医科大学医学部・教授  
辻 尚利 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所・主任研究員  
太田伸生 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
金澤 保 産業医科大学・教授  
我妻ゆき子 筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授  
鳥居本美 愛媛大学大学院医学系研究科・教授  
田辺和裕 大阪大学微生物病研究所・教授  
中西憲司 兵庫医科大学・教授  
松岡裕之 自治医科大学・教授  
久枝 一 九州大学医学研究院・准教授  
由井克之 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授  
金子 修 長崎大学熱帯医学研究所・教授  
金 惠淑 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
片倉 賢 北海道大学大学院獣医学研究科・教授  
嶋田淳子 群馬大学医学部・教授  
丸山治彦 宮崎大学医学部・教授  
五十嵐郁男 帯広畜産大学原虫病研究センター・教授  
大前比呂思 国立感染症研究所・室長  
奈良武司 順天堂大学大学院医学研究科・准教授

## A. 研究目的

アジアに広がる寄生虫疾患に関する基礎研究を推進し、その制圧、予防、治療に資する革新的な知見を集積することを目的とする。

多くの寄生虫疾患は「見捨てられた病気」として分類され、途上国や研究環境の貧弱な地域で流行し、たくさんの命が奪われ、あるいは脅かされ続けている。この分野に光を当て、現地の研究者も含めて新しくより効率的な制圧法を開発することは日本や欧米先進国の役割である。本研究課題を推進することにより、アジア地域の研究者を巻き込んだ共同研究を活性化することが可能となる。また、寄生虫疾患という環境に密着した感染症に関する研究に日本やアジア地域の若手研究者が参加することで、新たな医科学領域の後継者を育成することが可能となる。

## B. 研究方法

### 1. マラリア

A) 感染伝播メカニズム 松岡らは媒介蚊に対してRNA干渉を行ない、マラリア伝播性の調節実験をおこなった。これにより媒介蚊とマラリア原虫の相互作用について解析を行った。金らは、抗マラリア薬に対して耐性を示す耐性熱帯熱マラリア原虫に特異的に増殖阻害活性を示す新しい抗マラリア薬剤の開発を目指した。

B) 寄生虫の宿主適応 田辺らは原虫の遺伝子多型を指標として、原虫とヒト宿主の間の相互作用を解析し、特にその作用に重要な遺伝子の同定を試みた。狩野らは、原虫の栄養要求性について分子レベルでの解析を行い適応メカニズムを追及した。鳥居、金子らは、メロゾイトの赤血球侵入と問われる分子群の解析を行った。

C) ヒト防御免疫および病態生理 中西らはマウスモデルにより、久枝、由井らは、マウスマラリアモデルを用いて防御免疫の調節機構について分子レベルでの解析を行い、坪井らは無細胞発現システムによるマラリアのワクチン候補タンパクの網羅的解析を行い、

将来の実用化へとつなげた。

### 2. 住血吸虫症

A) 寄生虫の宿主適応 太田らはRNAiなどの手法により、免疫のターゲットとなる分子のスクリーニングや吸虫自体の寄生適応に重要な遺伝子の同定を試みた。

C) ヒト防御免疫および病態生理 金澤はマウスモデルで、また平山らは、ミニブタや中国のフィールドスタディでヒトを対象に防御免疫や慢性病変発現に関わる免疫機構の解明を行った。大前らはフィリピンおよびカンボジアで住血吸虫性肝病変の臨床疫学的解析を行った。

### 3. フィラリア症

A) 感染伝播メカニズム 木村らは、スリランカ、東チモール、ケニアなどの流行地での疫学調査を続行し、尿のIgG4による簡単な検査法の実用化を推進した。

B) 寄生虫の宿主適応 辻らは動物モデルでのフィラリアの寄生適応の分子レベルでの解析を行った。

### 4. 住血原虫症

A) 感染伝播メカニズム 片倉らはリーシュマニア症について、人獣共通感染症としての側面から感染伝播機構に関する疫学的解析を行った。我妻らはバングラデシュのリーシュマニア症蔓延フィールドにおいて、農薬問題のない天然素材であるニームオイルによるリーシュマニア症コントロールの可能性を判定した。

B) 寄生虫の宿主適応 嶋田らはトリパノゾーマやリーシュマニアなど細胞内寄生における防御応答回避メカニズムの分子レベルでの解析を行った。北らは、ミトコンドリアにおけるエネルギー代謝に関わる酵素群を解析し、医薬品開発を進展させた。片倉らは東南アジア産伝承的民間薬用植物に含まれる抗住血原虫活性物質の探索を試みた。

### 5. 新興再興感染症

A) 感染伝播メカニズム 五十嵐らは人畜共通感染症に関連する保有宿主側の病態生理

や診断法の開発を行なった。

B) 寄生虫の宿主適応 野崎らは赤痢アメーバの病原性に関わる分子メカニズムについて解析した。

奈良らは人獣共通寄生原虫・蠕虫の持つ特異な分子機構を同定し、それを詳細に解析した。

C) ヒト防御免疫および病態生理 丸山らは腸管上皮細胞と寄生線虫との相互作用を *in vitro* の系を構築して解析し、中西らは IL-18 や 27 等の重要なサイトカインに着目してモデルマウスを用いた腸管寄生虫蠕虫の排除メカニズムを詳細に解析した。

## 6. 媒介昆虫

A) 感染伝播メカニズム 小林らは媒介昆虫の病原体媒介能について、種々のモデルや疫学調査を元に解析し、感染症の流行の予測や予防に資する研究を行った。

以上の研究は、すべて他の研究費との共同研究として遂行し、個別の計画書や倫理委員会への承認申請は各研究者が独立して行った。

### (倫理面への配慮)

本研究計画においてはアジアの流行地域での疫学調査の実施も含まれるので、WHOの基準に従った倫理基準に基づいて実施された。血液などの試料提供者には研究主旨を説明した上で自由意思による同意を書面で得た。また、ヒト資料については匿名化を行った。今年度実施分については各分担研究者が所属機関とカウンターパートの機関において倫理審査を得た上で研究を開始するべく準備中である。動物実験についても各所属機関の動物実験審査の承認を得てから実施した。なお、計画にはヒトゲノム・遺伝子解析も含んでいる

- ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針
- 疫学研究に関する倫理指針
- 遺伝子治療臨床研究に関する指針
- 臨床研究に関する倫理指針
- 疫学・生物統計学の専門家の関与有
- 臨床研究登録予定無

## C. 研究結果

### 1. マラリア

A) 感染伝播メカニズム 松岡らはハマダ

ラカのキサントレン酸含量を低下させマラリア伝播性を低下させようと試みた。kynurenine 3-hydroxylase の dsRNA を注射されたハマダラカについて、個体別に XA を測定したところ、XA の産生が抑制されていない個体が約 80%、抑制されている個体が約 20% あった。すなわち被注射個体すべてにおいて XA 産生が抑制されているわけではないことが分かった。これは注射が不適切であった個体が多くあったことに起因すると思われた。次に、幼虫飼育水中に Thyroxine あるいは Bisphenol を添加して飼育したところ、Thyroxine には XA 産生抑制効果が認められなかったものの、Bisphenol 添加群では 30-50% の XA 産生抑制がみられた。この成虫群にマラリア感染マウスを吸血させたところ、マラリア伝播能は非添加群と差はなかった。すなわち 30-50% の XA 産生抑制ではハマダラカのマラリア伝播能を抑制・消滅させることはできないことが分かった。金らは、熱帯熱マラリア原虫に有効な新規抗マラリア薬の候補化合物を探索するために、分子内にペルオキシドを有する化合物、及び既存抗マラリア薬であるアルテミシニンの基本骨格をもとに 500 種類の化合物を有機合成し、抗マラリア活性を評価した。その結果、有機合成した化合物 500 種類のうち、分子内に簡単なペルオキシド構造を有する化合物、及びアルテミシニンの構造を基本骨格とする化合物の両方に高い抗マラリア活性と選択毒性を示す化合物を見出した。これら得られた候補化合物の構造-活性の解析の結果、環状過酸化構造を有する単純な構造 (8 員環に環状過酸化構造が挿入され、12 員環と連結した構造) を示す化合物は細胞毒性が少なく、また、ヒトのモデルとして用いたマウスの培養細胞に対し、毒性が低いことが判った。一方、アルテミシニンを基本骨格とする一連の化合物は基本構造を変換すると抗マラリア活性は維持されるものの、細胞毒性は逆に強いことが判った。

B) 寄生虫の宿主適応 田辺らは伝播度の異なる世界各地の *P. falciparum* 集団における *mssl* の多重感染度を、組換えによって生じる遺伝子型を検出する PCR タイピング法を用いて調べ、比較検討した。その結果、マラリ

ア伝播度の高いアフリカでは予想通り、*mssl* 多重感染度が高かった。一方、メラネシアでは伝播度と多重感染度に明瞭な相関は認められなかった。すなわち、伝播度がアフリカ並みに高いパプアニューギニア、ソロモン諸島ではMOIは低かった。伝播度が中程度のバヌアツでは、MOIは最も低かった。株特異的マラリア感染防御免疫の獲得には、マラリア伝播の強度、蚊体内の組換え頻度、さらに地域に分布する原虫の遺伝子型の数と多重感染の程度が関与することが本研究より示唆された。狩野らは、原虫の栄養要求性について分子レベルでの解析を行い赤血球期熱帯熱マラリア原虫は、同調性を維持して良好な細胞増殖をするために、飽和脂肪酸であるパルミチン酸の不飽和脂肪酸のパートナーとして、オレイン酸を厳格に要求し、炭素鎖長が同じ18であるが不飽和の位置とその数がそれぞれ異なるバクセン酸やリノール酸では代替できないことが明らかとなった。したがって、赤血球期熱帯熱マラリア原虫の細胞増殖において、オレイン酸は欠くことのできない血清中因子の一つであるという結論に至った。鳥居はメロゾイトの赤血球侵入の分子機構を解明する目的で、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* の EBL 分子 (PyEBL) の解析を進めた。急激な原虫感染率の上昇により致死的となる強毒株 (17XL) と致死的でない弱毒株 (17XNL) のアミノ酸配列を比較したところ、C末端部のCysに富む領域(第6領域)内のCysの一つが、17XL株ではArgに置換されていることを見出した。*pyebl* の転写量には17XNL株と17XL株の間で差が見られなかった。ウエスタンブロットティングでは、両株共に110kDaのバンドが検出され、PyEBLの発現にも差が見られなかった。ところが、間接蛍光抗体法によるPyEBLの局在は、Cysの保存されている17XNL株ではメロゾイト先端部に局在しているのに対し、Cysが置換されている17XL株では局在が異なっていた。免疫電子顕微鏡法による詳細な局在の観察によって、17XNL株ではPyEBLはマイクロネームに局在するのにに対し、17XL株ではデンスグラニュールに局在する事が明らかになった。金子らは、マラリア原虫が赤血球に侵入の際には、原虫と赤血球との間に移動

接合体と呼ばれる構造を形成するが、この形成に関与すると思われる分子RON2について解析を進めた。RON2およびRON4に対する抗血清作成を試みたが、RON2に対する抗血清のみが出来た。IFAの結果、RON2はメロゾイトの先端部に局在したが、その局在はマイクロネームともロプトリ一部とも異なっていた。免疫電子顕微鏡により、局在はロプトリ一頸部であることが明らかとなった。免疫沈降実験によりRON2とAMA1は複合体を形成していることが明らかとなった。RON2はRhopH複合体の構成成分であるRhopH1と共通する領域を持つが、免疫沈降実験の結果、RON2はRhopH複合体の構成成分ではないことが示唆された。世界各地から得られた5株を用いて細胞外領域の塩基配列を決定したところ、ほとんど多型が見られなかった。RON2はRhopH複合体には含まれていないことから、RhopH複合体と移動接合帯複合体はおそらく異なる機能を持つと考えられた。RON2は多型を示さないことから、宿主免疫にはそれほどさらされていないと考えられる。

C) ヒト防御免疫および病態生理 中西らは原虫に対する免疫抵抗性について *L. major* を感染させたBALB/cマウスにIL-27を投与すると、Th1応答が促進され、同時にTh2応答が抑制され、その結果感染抵抗型になることを明らかにした。一方、IL-27の作用でTh2応答が抑制されるため、*Strongyloides venezuelensis* (*Sv*) を感染させた場合は、*Sv* の排除に必要な小腸粘膜型肥満細胞の活性化が阻止され、その結果 *Sv* の排除が遅延することを明らかにした。さらに、IL-27transgenic(Tg)マウスでは、*Sv* の排除能が極めて低下していることを明らかにした。久枝はこれまでに開発してきたCD8T細胞活性化のための遺伝子ワクチン方法を最適化することを試み、CD8T細胞エピトープのプロセッシングに必須のプロテアソームによる抗原分解を促進させる戦略を確立した。由井は、マラリア抗原特異的なT細胞免疫応答を解析するための新たな実験モデルを開発した。このモデルを用いた研究から、マラリア感染により宿主にはマラリア抗原特異的なCD8+ T細胞が誘導されること、さらにこの誘導には宿主抗原提示細

胞の TAP 分子（細胞質内ペプチドを小胞体内に転送する分子）が必須であった。また、弱いながら、CD8<sup>+</sup> T 細胞は抗原非特異的にも活性化することが明らかになった。、坪井ら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メロゾイト期にのみ発現が示唆されている 149 種の組み換えタンパク質を発現することに成功した。これら 149 種類の組換えタンパク質とマラリア患者血清を酵素抗体法を用いて反応させ、ヒトに対して抗原性のある分子の予備的スクリーニングを行った。その結果、17 種類の原虫タンパク質が抗原として同定された。これらの中には、既知の抗原も数種類含まれており、本法で作製した組換えタンパク質の有用性が示唆された。したがって、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。

## 2. 住血吸虫症

### A) 感染伝播メカニズム

B) 寄生虫の宿主適応 太田らは日本住血吸虫の酸化ストレス回避に直接関与する peroxiredoxin (Prx) の遺伝子ノックダウンによる効果を検討した。In vitro における RNAi による Prx-1 の発現抑制システムをすでに開発したので、この方法が in vivo においても RNAi が同様に機能して寄生適応に影響を与えることが出来るかを検討した。その結果、Prx-1、Prx-2 の dsRNA を住血吸虫感染マウスに投与知ることにより、同遺伝子に対して一定の発現抑制をかけることが観察され、その結果として寄生虫体数には変化を生じなかったが、寄生住血吸虫による産卵抑制効果が認められた。現状では十分なレベルまで発現タンパクを抑制することは出来ないが、住血吸虫の寄生適応システムを in vivo で検証するシステムの構築が進んだ。

C) ヒト防御免疫および病態生理 金澤は関節リウマチ (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) に対するマンスン住血吸虫 (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 (昨年度報告済)。リアルタイム

PCR 解析により、非感染の II 型コラーゲン (IIC) 免疫マウスの足肢においては、IL-1 $\beta$ 、IL-6、RANKL などの炎症性サイトカインの発現が上昇するが、感染を受けた IIC 免疫マウスにおいては、この発現上昇が抑制されていることが明らかになった。また平山らは、放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニブタの血清中の特異抗体に反応する日本住血吸虫卵及び虫体由来の抗原の同定を行い、新しいワクチン候補の探索を行った。反応性を示した虫卵由来の数種の精製分画からアミノ酸配列を決定し、相同性検索を行なった結果日本住血吸虫のデータベースから AAW27472.1 を同定した。この遺伝子配列から組み換え蛋白を作成し、放射線照射セルカリア感染ミニブタ血清には反応するが、通常感染ミニブタ血清には反応しないことを確認した。この新たなワクチン候補蛋白は、26%程度のカテプシン B との相同性が認められた。大前らはカンボジアのメコン住血吸虫浸淫地で、プラジカンテルによる非選択的集団治療の結果、3年で触知できるような肝肥大を認めるような小児はみられなくなり、本年度の調査においてもその成果は継続していることが明らかとなった。この間、メコン川に生息する媒介貝への直接の対策は実施されず、住民への健康教育も限定的であった。ほぼ集団治療のみでこの成果が得られた理由として、①集団治療への高い住民参加と並んで、②媒介貝がヒトと接触する期間が年間3ヶ月に限られること ③ヒト以外に問題となる保虫宿主が殆どいないことなどをあげることができる。

## 3. フィラリア症

A) 感染伝播メカニズム 木村らは、血液の代わりに尿を検体とする免疫診断法 (尿 ELISA) を確立し、スリランカにおいてその有用性を検討した。デニヤヤ地方においては、フィラリア症集団治療 (年1回治療の5年目) の効果を評価するために小・中学生を対象として尿 ELISA を実施した。また、南部州では、広域 (人口約 200 万) をカバーする感染率調査を実施した。ビルハルツ住血吸虫症が流行するケニアでは、尿 ELISA がしばしば偽陽性



を示す。ELISA法の改良を行い、偽陽性をほぼ無くすることに成功した。

B) 寄生虫の宿主適応 辻らは寄生線虫の脱皮関連酵素である無機ピロフォスファターゼ (AsPPase) の酵素特性の解明及びAsPPaseノックダウン回虫の作出によって、AsPPaseがフィラリアなどの寄生線虫の脱皮に必須であることが判明した。また、媒介動物(ベクター)が産生する生物活性分子の機能探索の結果、ベクターには伝搬する寄生虫に対する抗寄生虫分子が保持されていることがわかった。

#### 4. 住血原虫症

A) 感染伝播メカニズム 片倉らはリーシュマニア症の分子疫学的研究を行い、パキスタンにおける皮膚リーシュマニア症の新しい流行地であるパキスタン中南部のインダス河低地流域には、これまで報告のなかった *Leishmania (L.) major* が広く分布していることが明らかとなった。我妻らはニームオイルを家屋内散布することによって、リーシュマニア症コントロールが可能であるかを効果判定することを目的として研究を行った。バングラデシュにおいてリーシュマニア症が蔓延している地域において、その標準化家屋内散布介入をする世帯(850)とコントロール世帯(850)をランダム割り当てし、各世帯から1人のインデックスケースに対して、患者発生が減少したかを2年間モニタリングする予定であるが、介入1年後の血液検査を2007年11月-2008年1月に実施し、予備データ解析を行った。散布家屋においては抗体陽性化率の減少傾向(散布家屋=2.0%;非散布家屋=2.7%)がみられた。もう1年間、介入継続し最終評価をする予定である。農薬問題のない天然植物素材のニームオイルが、役立つことが示せば、他の媒介昆虫による重要疾患、たとえば、マラリアやデング熱への応用が示唆される。

B) 寄生虫の宿主適応 嶋田らは *Trypanosoma cruzi* 感染細胞では宿主アポトーシス抑制因子である c-FLIP の発現が上昇しており、Fas を介するアポトーシスが抑制することを明らかにしてきた。原虫感染細胞で c-FLIP

タンパク質の発現が上昇していることからその作用機構を解明することを目的として、今年度は c-FLIP の分解について検討した。本タンパク質はユビキチン-プロテアソーム系で分解されることが知られているので、ユビキチン化、プロテアソーム活性を測定した。その結果、感染細胞でも c-FLIP のユビキチン化は起こっており、プロテアソーム活性は非感染細胞よりも高く、おそらく正常に働いていることが示唆された。

北らは、熱帯熱マラリア原虫の培養系から単離した粗ミトコンドリア画分を用い、ミトコンドリアとアピコプラストの相互作用を調べる目的でパーコールによる分離に対する細胞破碎条件などを含む、種々の処理、薬剤の効果を検討した。ミトコンドリアに関してはジヒドロオロト酸脱水素酵素およびジヒドロオロト酸-シトクロム c 還元酵素活性、またアピコプラストに関しては上述のフェレドキシンに対する抗体および35Kbの環状DNA上の塩基配列を増幅するPCRを用いてその挙動を調べた。その結果、N<sub>2</sub>キャビテーションによる細胞破碎をこれまでの1200psiから300psiに低下させても細胞破碎の効率は変化せず、またより障害の少ないミトコンドリアを得る事ができる点が、明らかになった。また、DNase処理によりヘモゾインを含む食胞や他の構造物の塊が消失し、より効率的な分離が可能となった。さらに微小管やアクチンなどの細胞骨格の阻害剤を加える事により、これまで常に挙動が一致していたミトコンドリアとアピコプラストがパーコールによる遠心後に一部異なった位置に分離された。

アフリカトリパノソーマのシアン耐性酸化酵素に関しては、昨年度確立した再現性が高く、常に高純度、高活性の標品の精製法を用いて大量の酵素の精製を行った。この精製標品を用いて酵素学的解析を行い、アスコフラノンによる阻害が混合型阻害である事を明らかにした。また、結晶化の条件をスクリーニングし、最終的に良質の結晶を得る事ができた。

片倉らは薬用植物に含まれる抗住血原虫活性物質の探索として、ニガキ科の *Brucea javanica* の乾燥種子抽出物には、多種類のク

アミノ酸(苦み成分)が含まれており、イヌ・バベシア症の病原体である *Babesia gibsoni* の *in vitro* における赤血球内増殖や、*Trypanosoma evansi* の *in vitro* における増殖を抑制する作用のあることが明らかとなった。

## 5. 新興再興感染症

A) 感染伝播メカニズム 五十嵐らはウシバベシア原虫 *B. bovis* の赤血球侵入・増殖におけるコレステロール、システインプロテアーゼ阻害剤およびサイクリン依存性キナーゼ阻害剤の影響を検討した。ウシ赤血球を 5mM MCD で処理すると、膜コレステロールの減少が認められ、MCD 処理赤血球を用いて *B. bovis* の *in vitro* 培養を行った結果、原虫の赤血球への侵入、分裂・増殖が抑制された。しかし、1 mM MCD 処理赤血球を用いて検討した結果、原虫の赤血球への侵入、増殖が促進された。また、4種類のシステインプロテアーゼ阻害剤 (E64, E64d, leupeptin, and ALLN) および 4種類の CDK 阻害剤 (roscovitine, purvalanol A, CGP74514A, CDK2 Inhibitor II) を用いて、原虫に対する影響を検討した。システインプロテアーゼ阻害剤の E64d は赤血球への侵入、ALLN は赤血球内の増殖、また、CDK 阻害剤の roscovitine, purvalanol A, CDK2 Inhibitor II は初期の原虫増殖、CGP74514A は赤血球への侵入を抑制する事が明らかとなった。また、ウシバベシア原虫 *B. bovis* と *B. bigemina* の RAP1 抗原の組換え蛋白質を用いて、それぞれに特異的なイムノクロマト法を開発した。また、*B. bovis* と *B. bigemina* を同時に検出可能な LAMP 法が確立された。更に、ウマバベシア原虫 *B. caballi* と *B. equi* に対する LAMP 法は PCR 法と同等の感度で、培養法による原虫検出よりも感度が高い事が明らかになった。PCR による *B. equi* 遺伝子検出のため、ろ紙による血液材料採取法は、通常の DNA 抽出法と同等の検出結果を示した。

B) 寄生虫の宿主適応 野崎らは赤痢アメーバの病原機構を明らかにすることを目的とし赤痢アメーバの生存エネルギー代謝に不可欠な鉄硫黄タンパク質であるフェレドキシン

などの解析を行った。1. 赤痢アメーバ FDX の多様性 赤痢アメーバゲノムに 7 の Fdx と相同性を示すエントリーが見つかり、このうち 5 は独立していた。いずれの Fdx も真性細菌、古細菌の Fdx と高い相似を示した。XP\_655183/XP\_655182、XP\_654311/XP\_652694 のペアは全く同一であった。この中の代表的な遺伝子/タンパク質を Fdx1-3 と名付けた。演繹されたタンパク質の分子量は 6.1-8.8kDa であった。また Fdx1-3 の等電点は 4.2-8.6 と大きく異なり、電子供与/受容体としての性質が大きく異なることが予想された。

2. 赤痢アメーバ PFOR のタンパク質配列上の特徴 赤痢アメーバの PFOR は微小な多様性を示す 2 種類のエントリーとして見つかった。これらは恐らく遺伝子座間の相違と予想された。いずれの遺伝子も真性細菌の PFOR と高い同一性を示すとともに、系統発生解析に結果真性細菌から水平転移により獲得されたことが示唆された。奈良らは治療薬の標的として有望である寄生原虫トリパノソーマのピリミジン合成経路の特異性について分子進化学的研究を進め、水平転移による新規遺伝子の獲得や遺伝子の再編成(融合融合遺伝子の二次的分離および再融合)が、祖先生物で起きたことを明らかにした。

C) ヒト防御免疫および病態生理 丸山らは腸管上皮細胞と寄生線虫との相互作用を *in vitro* の系を構築して解析し、中西らは IL-18 や 27 等の重要なサイトカインに着目してモデルマウスを用いた腸管寄生虫蠕虫の排除メカニズムを詳細に解析した。IL-27 による Th2 応答の抑制が起こると、*Strongyloides venezuelensis* (Sv) を感染させた場合は、Sv の排除に必要な小腸粘膜型肥満細胞の活性化が阻止され、その結果 Sv の排除が遅延することが明らかになった。さらに、IL-27 transgenic (Tg) マウスでは、Sv の排除能が極めて低下していることも示された。丸山らは 2007 年の宮崎大学での寄生虫症検査受託総数は 617 件、そのうち新規検査は 416 件、そのなかの 168 件 (43.8%) を寄生虫症と診断した。内訳では肺吸虫症と回虫類の幼虫による内臓幼虫移行症が多数を占めた。トリクラベンダゾール(エガテン)による肝蛭症の治療はこれまでの報

告どおり良好な結果が得られ、重篤な副作用も見られなかった。今後も国内発生全例のデータの蓄積を続けていく。

## 6. 媒介昆虫

A) 感染伝播メカニズム 小林らは媒介昆虫の病原体媒介能について、種々のモデルや疫学調査を元に解析し、感染症の流行の予測や予防に資する研究を行った。ヒトスジシマカの世代数は、分布北限地域では1年間3-4世代と低く、東京近郊では5-6世代と推定された。大阪以南から九州にかけて、6-7世代の地域が存在し、発生場所によっては、相当高い個体群密度の存在が予想される。一方、地球温暖化によって、ヒトスジシマカの分布域の拡大が予想されるため、MIROCK(K1)モデルを用いて安定して同蚊の分布が見られる4世代以上地域の分布を解析した。その結果、2035年には青森県、2100年には北海道まで分布域が拡大する可能性が示唆された。個体群密度を評価する簡便な評価法の開発が地域間でのヒトスジシマカ成虫の発生密度を比較する上で必要であると考えられた。国立感染症研究所構内で2003年よりドライアイストラップによって継続調査している疾病媒介蚊の捕獲個体数データ(過去5年間)を分析し、ある年の発生密度の多寡を評価する基準値を求めた。これによって、蚊の発生量が平年に比較してどの程度であるかを量的に評価することが可能になった。密度評価の基準値の設定方法は米国の方法にしたがった。5年間の平均捕獲個体数の50%、90%、150%、300%を計算し、以下に示す5つの密度レベルを決定した; レベル1: 平年よりもはるかに低い (<50%)、レベル2: 平年よりも低い (50-90%)、レベル3: 平年並み (90-150%)、レベル4: 平年より高い (150-300%)、レベル5: 平年よりもはるかに高い (>300%)。ヒトスジシマカは31週目ごろに、60-100個体/トラップ/日である場合、平年並みの発生密度であると考えられる。

## D. 考察

マラリア、住血吸虫症、フィラリア、住血原虫症、新興再興感染症、媒介昆虫の6つの領

域にわたって、分子レベルから疫学、公衆衛生学的なレベルの研究が積極的に行われた。実験室レベルの研究においても、アジア各地の流行地由来の病原寄生虫が研究対象となっており、タイやベトナム、カンボジア、フィリピン、中国などの研究者との共同研究が推進された。横断的な視点で見れば、薬剤開発に資する有望な研究がマラリア、トリパノソーマ症、リーシュマニア症で進行している。フィラリア症の診断法についても有用な技術開発が行われた。カンボジア、ラオスの住血吸虫症研究は今後さらに促進される必要がある。また、フィリピンや中国の住血吸虫研究グループとの共同研究を促進する必要性もあり、米国、日本、アジアの間でより一層密接な情報交換の場を作っていくことが重要であると考えられる。また、文部科学省の主導で進められている新興再興感染症研究海外拠点ネットワークプログラムで設置された、タイ、ベトナム、インド、インドネシア、中国、フィリピンなどの研究拠点との共同研究も今後模索していくことが必要である。

## E. 結論

アジアに蔓延する広範囲な寄生虫疾患を対象にした分子レベルから公衆衛生レベルまでの活発な研究が行われ、本プログラムが各研究グループの間の情報交換や新しいプロジェクトの提案、若手研究者の育成に重要な役割を果たした。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### (1) 論文発表

Bern C, Haque R, Chowdhury R, Ali M, Kurkjian KM, Vaz L, Amann J, Wahed MA, Wagatsuma Y, Breiman RF, Williamson J, Secor WE, Maguire JH. The epidemiology of visceral leishmaniasis and asymptomatic leishmanial infection in a highly endemic Bangladeshi village. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 May;76(5):909-14.

- Haque R, Thriemer K, Wang Z, Sato K, Wagatsuma Y, Salam MA, Akther S, Akter J, Fukuda M, Miller RS, Noedl H. Therapeutic efficacy of artemether-lumefantrine for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Jan;76(1):39-41.
- 丸山治彦 巨大寄生虫が宿主から排除される仕組み (生体防御医学事典) 鈴木和男監修 pp. 28-32 朝倉書店 (2007)
- Maruyama, H, and Nawa, Y Immunology of the Infection. In: 'Food-Borne Parasitic Zoonoses' World Class Parasites , Vol. 11, (Murrell, K. Darwin; Fried, Bernard Eds.), pp.337-381, Springer Science, New ark (2007)
- 丸山治彦 幼虫移行症 (今日の治療指針 2008) 朝倉書店 (2007)
- 丸山治彦、名和行文 肺吸虫 (特集 呼吸器と寄生虫) 日本胸部臨床 66: 269-275 (2007)
- 丸山治彦 寄生虫疾患と好酸球・好塩基球 (今月の主題 白血球) 臨床検査 51: 1047-1052 (2007)
- 丸山治彦、名和行文 寄生虫妄想が疑われる 3例 *Clinical Parasitology* 17; 100-101.
- Chiyo Yamauchi-Kawaura, Hitomi Watanabe, Anna Nishimaki, Haruhiko Maruyama, Ayako Yoshida, and Nobuo Ohta Goblet cell hyperplasia elicited by infection with an intestinal nematode, *Strongyloides venezuelensis*, is not protective against goblet cell-sensitive *Nippostrongylus brasiliensis* in mice. *Nagoya Medical Journal* (2007)
- Imai T, Duan X, Hisaeda H, and Himeno K. Antigen-specific CD8+ T cells induced by the ubiquitin fusion degradation pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 365: 758-763, 2008.
- Shen J, Hisaeda H, Chou B, Yu Q, Tu L, and Himeno K. Ubiquitin-fusion degradation pathway: A new strategy for inducing CD8 cells specific for mycobacterial HSP65. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 365: 621-627, 2008.
- Tetsutani K, To H, Torii M, Hisaeda H, and Himeno K. Malaria parasite induces tryptophan-related immune suppression in mice. *Parasitology* 134: 923-930, 2007.
- Diversity and evolution of the *rhopH1/c1ag* multigene family of *Plasmodium falciparum*." Iriko H, Kaneko O, Otsuki H, Tsuboi T, Su XZ, Tanabe K, Torii M. *Molecular and Biochemical Parasitology* (in press)
- Epigenetic silencing of *Plasmodium falciparum* genes linked to erythrocyte invasion." Cortés A, Carret C, Kaneko O, Yim-Lim BYS, Ivens A, Holder AA. *PLoS Pathogen* 3:e107 (2007)
- A novel DBL-domain of the *P. falciparum* 332 molecule involved in erythrocyte adhesion." Moll K, Chene A, Ribacke U, Kaneko O, Nilsson S, Winter G, Haeggstrom M, Pan W, Berzins K, Wahlgren M, Chen Q. *PLoS ONE* 2:e477 (2007)
- The *Plasmodium falciparum* RhopH2 promoter and first 24 amino acids are sufficient to target proteins to the rhoptries." Ghoneim A, Kaneko O, Tsuboi T, Torii M. *Parasitology International* 56(1):31-43 (2007)
- 綿矢 有佑、金 惠淑。抗マラリア薬。ファルマシア, 44 (1), 32-36, 2008.

金 惠淑. 最近の抗マラリア薬の開発状況。  
病原微生物検出情報、厚生労働省発行 vol. 2  
8, No 1, 9-10, 2007.

Tangin, A., Komichi, Y., Wagatsuma, Y.,  
Rashidul, H., Wataya, Y. and Kim, H.-S.  
Detection of malaria parasites in mosqui-  
toes from a malaria endemic area Chakari  
a, Bangladesh. *Biol. Pharm. Bull.* (In Pr  
ess).

Sato, A., Hiramoto, A., Satake, A., Miya-  
zaki, E., Naito, T., Wataya, Y. and Kim,  
H.-S. Association of nuclear membrane pr  
oteins lamin B1 with necrosis and apoptos  
is in cell death induced by 5-fluoro-2'-  
deoxyuridine. *Nucleosides, Nucleotides &  
Nucleic Acids* (In Press).

Sato, A., Hiramoto, A., Uchikubo, Y., Mi-  
yazaki, E., Satake, A., Naito, T., Hirao-  
ka, O., Miyake, T., Kim, H.-S. and Watay  
a, Y. Gene expression profiles of necros  
is and apoptosis induced by 5-Fluoro-2'-  
deoxyuridine. *Genomics* (in Press).

Lim, S., Kim, H.-S. and Lee, D. In vitro  
antimalarial activity of flavonoids and  
chalcones. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 28  
(12), 2495-2497, 2007.

Suzuki, H., Aly, N., Wataya, Y., Kim, H.-  
S., Tamai, I., Kita, M. and Uemura, D.  
Preparation of Quinoline Hexose Analogs  
as Novel Chloroquine-Resistant Malaria  
Treatments (1). Synthesis of 4-Hydroxyqu  
inoline- $\beta$ -glucosides. *Chem. Pharm. Bul*  
l., 55(5) 821-824, 2007.

Aly, N., Hiramoto, A., Sanai, H., Hiraok  
a, O., Hiramoto, K., Kataoka, H., Wu, J.  
-M., Masuyama, A., Nojima, M., Kawai, S.,  
Kim, H.-S. and Wataya, Y. Proteome analy-  
sis of new antimalarial endoperoxide aga  
inst *Plasmodium falciparum*. *Parasitol. R*

*es.*, 100, 1119-1124, 2007.

Amount of cholesterol in host membrane a-  
ffects erythrocyte invasion and replicat  
ion by *Babesia bovis*. *Parasitology*. 134:  
625-630. 2007.

*Babesia bovis*: Effects of cysteine prote-  
ase inhibitors on in vitro growth. *Exp P*  
*arasitol.* 117:214-217. 2007.

Cyclin-dependent kinase inhibitors block  
erythrocyte invasion and intraerythrocy-  
tic development of *Babesia bovis* in vitr  
o. *Parasitology*. 134:1347- 1353. 2007.

Comparative evaluation of the sensitivi-  
ty of LAMP, PCR and in vitro culture me-  
thods for the diagnosis of equine pirop  
lasmo- sis. *Parasitol. Res.* 100: 1165-  
1168. 2007.

Comparison of polymerase chain reaction  
methods for the detection of *Theileria*  
*equi* infection using whole blood compa-  
red with pre-extracted DNA samples as P  
CR templates. *Trop Anim Health Prod.* 39  
: 369 -374. 2008.

Development of two immuno- chromatograp  
hic tests for the serodiagnosis of bovi-  
ne babesi- osis. *Vet Parasitol.* 148:137  
- 143. 2007.

Development of a multiplex loop-mediate  
d isothermal amplification (mLAMP) meth  
od for the simultaneous detection of bo-  
vine *Babesia* parasites. *J Microbiol Met*  
*hods.* 71:281-287. 2007.

F. Mi-Ichi, S. Kano and T. Mitamura. Ole-  
ic acid is indispensable for intraerythr  
ocytic proliferation of *Plasmodium falci*  
*palum*. *Parasitology* 134; 1671-1677, 200  
7.

津田良夫 2007. 鳥マラリア媒介蚊の生態:アカイエカ群とヒトスジシマカの比較。動物の原虫病、22:(印刷中)。

Kobayashi, M., O. Komagata and N. Nihei (2008) Global warming and vector-borne infectious diseases. *Journal of Disaster Research* (in press).

Kobayashi, M., S. Kasai, K. Sawabe and Y. Tsuda (2008) Distribution and Ecology of Potential Vector Mosquitoes of West Nile Fever in Japan. *Global Environmental Research* (in press).

Ohta N, Waikagul J.: Disease burden and epidemiology of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis in Asia. *Trends in Parasitol*, 23:30-35, 2007.

Akao N, Ohta N.: Toxocariasis in Japan. *Parasitol Int*, 56:87-93, 2007.

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 in Parasitol*, 23:54-57, 2007.

Nara T, Iizumi K, Ohmae H, Sy O, Tsubota 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 *Schistosoma japonicum* in Leyte, the Philippines. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(2): 384-391, 2007.

Sinuon M, Tsuyuoka R, Socheat D, Odermat P, Ohmae H, Matsuda H, Montresor A, Palmer K. Control of *Schistosoma mekongi* in Cambodia: results of eight years of control activities in the two endemic provinces. *Transaction of Royal Societ*

*y of Tropical Medicine and Hygiene*. 101 (1): 34-39, 2007.

Sawaki, J., Tsutsui, H., Hayashi, N., Yasuda, K., Akira, S., Tanizawa, T. and Nakanishi, K. Type 1 cytokine/chemokine production by mouse NK cells following activation on their TLR/MyD88-mediated pathways. *Int. Immunol*. 19: 311-320. (2007)

Hayashi, N., Yoshimoto, T., Izuhara, K., Matsui, K., Tanaka, T., Nakanishi, K. T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN- $\gamma$  and IL-13 production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 14765-14770. (2007)

Fujibayashi, Y., Fujimori, Y., Kasumoto, I., Kai, S., Hara, H., Okamura, H., Tsutsui, H., Ogawa, H. and Nakanishi, K. Interleukin-18 regulates T helper 1 or 2 immune responses of human cord blood CD4<sup>+</sup> V $\alpha$ 24<sup>+</sup> V $\beta$ 11<sup>+</sup> natural killer T cells. *Int. J. Mol. Med*. 20: 241-245. (2007)

Yoshimoto T, Yoshimoto T, Yasuda K, Mizuguchi J, Nakanishi K. IL-27 suppresses Th2 cell development and Th2 cytokines production from polarized Th2 cells: a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation. *J. Immunol*. 179:4415-23 (2007)

Arizono N, Nakanishi K, Horii T, Tanabe K. Progress in the molecular biology of malaria and the immunology of nematode infections. *Trends Parasitol*. 23:175-81 (2007)

Seki, E., Kondo, Y., Iimuro, Y., Naka, T., Son, G., Kishimoto, T., Fujimoto, J., Tsutsui, H. and Nakanishi, K. Demonstration of cooperative contribution of MET-

- and EGFR-mediated STAT3 phosphorylation to liver regeneration by exogenous suppressor of cytokine signalings. *J. Hepatol.*, 48: 237-245. (2008)
- Andoh, T., Kishi, H., Motoki, K., Nakaniishi, K., Kuraishi, Y. and Muraguchi A. Protective Effect of IL-18 on Kainate- and IL-1 $\beta$ -Induced Cerebellar Ataxia in Mice. *J. Immunol.*, 180: 2322-2328. (2008)
- Ghoneim A, Kaneko O, Tsuboi T, Torii M. The *Plasmodium falciparum* RhopH2 promoter and first 24 amino acids are sufficient to target proteins to the rhoptries. *Parasitol Int* 56:31-43 2007.
- Tetsutani K, To H, Torii M, Hisaeda H, Himeno K. Malaria parasite induces tryptophan-related immune suppression in mice. *Parasitology*. 134 (7): 923-930, 2007
- Kobayashi F, Waki S, Niikura M, Tachibana M, Tsuboi T, Torii M, Kamiya S. *Plasmodium berghei* XAT: Protective 155/160 kDa antigens are located in parasitophorous vacuoles of schizont-stage parasite. *Exp. Parasitol*, 116 (4):450-457, 2007
- Katsube T, Matsumoto S, Takatsuka M, Okuyama M, Ozeki Y, Naito M, Nishiuchi Y, Fujiwara N, Yoshimura M, Tsuboi T, Torii M, Oshitani N, Arakawa T, Kobayashi K  
Control of cell wall assembly by a histone-like protein in mycobacteria. *J Bacteriol* 189(22): 8241-8249 2007.
- Tsuji N, Badgar B, Damdinsuren B, Miyoshi T, Xuan X, Oliver Jr JH, Fujisaki K. (2007). Babesial vector tick defensin against *Babesia* sp. parasites. *Infect Immune*. 75, 3633-3640.
- Mudeppa DG, Pang CKT, Tsuboi T, Endo Y, Buckner FS, Varani G, Rathod PK. Cell-free production of functional *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase-thymidylate synthase. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2007, 151:216-219.
- Ghoneim A, Kaneko O, Tsuboi T, Torii M. The *Plasmodium falciparum* RhopH2 promoter and first 24 amino acids are sufficient to target proteins to the rhoptries. *Parasitol. Int.* 2007, 56:31-43.
- Kobayashi F, Waki S, Niikura M, Tachibana Mayumi, Tsuboi T, Torii M, Kamiya S. *Plasmodium berghei* XAT: Protective 155/160 kDa antigens are located in parasitophorous vacuoles of schizont-stage parasite. *Exp. Parasitol.* 2007, 116:450-457.
- Han ET, Watanabe R, Sattabongkot J, Khuntirat B, Sirichaisinthop J, Iriko H, Jin L, Takeo S, Tsuboi T. Detection of four *Plasmodium* species by genus- and species-specific loop-mediated isothermal amplification for clinical diagnosis. *J Clin Microbiol.* 2007, 45:2521-2528.
- K. Tanabe, A. Escalante, N. Sakihama, M. Honda, N. Arisue, T. Horii, R. Culleton, T. Hayakawa, T. Hashimoto, S. Longacre, S. Pathirana, S. Handunnetti, H. Kishino. (2007) Recent independent evolution of *mssl* polymorphism in *Plasmodium vivax* and related malaria parasites. *Mol. Biochem. Parasitol.* 156: 74-79.
- K. Tanabe, N. Sakihama, D. Walliker, H. Babiker, A. A. Abdel-Muhsin, B. Bakote, H. Ohmae, N. Arisue, T. Horii, I. Rooth, A. Färnert, A. Björkman, and L. Ranford-Cartwright. (2007) Allelic dimorphism-associated restriction of recombination in *Plasmodium falciparum* *mssl*. *Gene* 392: 153-160.

- 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.* 76: 1037-1045.
- 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.* 51: 1071-1077.
- Nara T, Iizumi K, Ohmae H, Sy O, Tsubota 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 *Schistosoma japonicum* in Leyte, the Philippines. *Am J Trop Med Hyg*, 76(1): 384-391, 2007
- Makiuchi T, Nara T, Annoura T, Hashimoto T, Aoki T. Occurrence of multiple, independent gene fusion events for the fifth and sixth enzymes of pyrimidine biosynthesis in different eukaryotic groups. *Gene*, 394(1-2): 78-86, 2007
- Annoura T, Sariago I, Nara T, Makiuchi T, Fujimura T, Taka H, Mineki R, Murayama K, Aoki T. Dihydroorotate dehydrogenase arises from novel fused gene product with aspartate carbamoyltransferase in *Bodo saliens*. *Biochem Biophys Res Commun*, 358(1): 253-258, 2007
- Makiuchi T, Annoura T, Hashimoto T, Murata E, Aoki T, Nara T. Evolutionary analysis of synteny and gene fusion for pyrimidine biosynthetic enzymes in Euglenozoa: An extraordinary gap between kinetoplastids and diplomonads. *Protist*, in press.
- Helegbe GK, Goka BQ, Kurtzhals JA, Addae MM, Ollaga E, Tetteh JK, Dodoo D, Ofori MF, Obeng-Adjei G, Hirayama K, Awandare GA, Akanmori BD. Complement activation in Ghanaian children with severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J.* 2007 Dec 17;6 :165.
- Shuaibu MN, Wuyep PT, Yanagi T, Hirayama K, Ichinose A, Tanaka T, Kouno I. Trypanocidal activity of extracts and compounds from the stem bark of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennoides*. *Parasitol Res.* 2008 102:697-703.
- Yu C, Yin X., Kikuchi M., Hirayama K, Zhu Y. Isolation of the cDNAs encoding secreted and membrane binding proteins from egg of *Schistosoma japonicum* (Chinese strain), *Acta parasitological*, vol. 53, number 1, 2008. in press.
- Myint CK, Asato Y, Yamamoto Y, Kato H, Bhutto AM, Soomro FR, Memon MZ, Matsumoto J, Marco JD, Oshiro M, Katakura K, Hashiguchi Y, Uezato H: Polymorphisms of cytochrome *b* gene in *Leishmania* parasites and their relation to types of cutaneous leishmaniasis lesions in Pakistan. *J Dermatol* 35, 76-85, 2008
- Matsumoto J, Sakamoto K, Shinjyo N, Kido Y, Yamamoto N, Yagi K, Miyoshi H, Nonaka N, Katakura K, Kita K, Oku Y: Anaerobic NADH-fumarate reductase system is predominant in the respiratory chain of *Echinococcus multilocularis*, providing a novel target for the chemotherapy of alveolar echinococcosis. *Antimicrob Agents Chemother* 52, 164-170, 2008
- Subeki, Matsuura H, Takahashi K, Nabeta K,



Yamasaki M, Maede Y, Katakura K: Screening of Indonesian medicinal plant extracts for anti-babesial activity and isolation of new quassinoids from *Brucea javanica*. *J Nat Prod* 70, 1654-1657, 2007

Matsuura H, Nomura S, Subeki, Yamada K, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y, Katakura K, Trimurningsih, Chairul, Yoshihara T, Nabeta K: Anti-babesial compounds from *Curcuma xanthorrhiza*. *Nat Prod Res* 21, 328-33, 2007

Elkhateeb A, Matsuura H, Yamasaki M, Maede Y, Katakura K, Nabeta K: Anti-babesial compounds from *Rosa damascena*. *Nat Prod Commun* 2, 765-769, 2007

Elkhateeb A, Yamada K, Takahashi K, Matsuura H, Yamasaki M, Maede Y, Katakura K, Nabeta K: Anti-babesial compounds from *Berberis vulgaris*. *Nat Prod Commun* 2, 173-175, 2007

Mitochondria and apicoplast of *Plasmodium falciparum*: behaviour on subcellular fractionation and the implication.

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., Watanabe, Y., Kita, K. (2007)

*Mitochondrion* 7, 125-132

Independent evolution of pyrimethamine resistance in *Plasmodium falciparum* in Melanesia. Mita, T., Tanabe, K., Takahashi, N., Tsukahara, T., Eto, H., Dysoley, L., Ohmae, H., Kita, K., Krudsood, S., Looareesuwan, S., Kaneko, A., Bjokman, A., and Kobayakawa, T. (2007) *Antimicrob. Agents. Chemother.* 51, 1071-1077

Parasitology in Japan: Advances in drug discovery and biochemical studies. Kita, K., Shiomi K., and Ōmura, S. (2007) *Trends in Parasitol.* 23, 223-229

Relationship between reactive oxygen species and heme metabolism during the differentiation of Neuro2a cells. Shinjyo N., and Kita K, (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358, 130-135

Change of subunit composition of mitochondrial complex II

(Succinate-ubiquinone

reductase/Quinol-fumarate reductase) in *Ascaris suum* during the migration in the experimental host. Iwata F., Shinjyo N., Amino H., Sakamoto K., Islam M. K., Tsuji N. and Kita K. (2008) *Parasitol. Int.* 57, 54-61

Anaerobic NADH-Fumarate Reductase System Is Predominant in the Respiratory Chain of *Echinococcus multilocularis*, Providing a Novel Target for the Chemotherapy of Alveolar Echinococcosis. Matsumoto J., Sakamoto K., Shinjyo N., Kido Y., Yamamoto N., Yagi K., Miyoshi H., Nonaka N., Katakura K., Kita K. and Oku Y. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 印刷中

Decursin and decursinol angelate selectively inhibits NADH-fumarate reductase of *Ascaris suum*. Shiomi K., Hatano H., Morimoto H., Ui H., Sakamoto K., Kita K., Tomoda H., Lee E. W., Heo T. W., Kawagishi H., and Omura S. *Planta Medica* 印刷中

Mutation underlying resistance of *Plasmodium berghei* to atovaquone in the quinone binding domain 2 (Qo<sub>2</sub>) of the cytochrome *b* gene. Siregar J. E., Syafruddin D., Matsuoka H, Kita K., and Marzuki S. *Parasitol. Int.* 印刷中

Confirmation of elimination of lymphatic filariasis by an IgG4 enzyme-linked immunosorbent assay with urine samples in Yongjia, Zhejiang Province and Gaoan, Jiangxi Province, People's Republic of China. Itoh M, Wu W, Sun D, Yao L, Li Z, Islam MZ, Chen R, Zhang K, Wang F, Zhu S, Kimura E. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77: 330-333.

Multicentre evaluations of two new rapid IgG4 tests (WB rapid and panLF rapid) for detection of lymphatic filariasis. Noordin R, Itoh M, Kimura E, Rahman RA, Ravindran B, Mahmud R, Supali T, Weerasooriya M. *Filaria J* 2007; 6: 9 (26 October 2007).

Production of recombinant kinesin-related protein of *Leishmania donovani* and its application in the sero-diagnosis of visceral leishmaniasis. Takagi H, Islam MZ, Itoh M, Islam AU, Saifuddin Ekram AR, Hussain SM, Hashiguchi Y, Kimura E. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76(5): 902-905.

The ELISA-based detection of anti-*Opisthorchis viverrini* IgG and IgG4 in samples of human urine and serum from an endemic area of north-eastern Thailand. Tesana S, Srisawangwong T, Sithithaworn P, Itoh M, Phumchaiyothin R. *Ann Trop Med Parasitol* 2007; 101: 585-591.

Graham Clark, C.G., Cecilia, U., Alsmark, M., Hofer, M., Saito-Nakano, Y., Ali, V., Marion, S., Weber, C., Mukherjee, C., Bruchhaus, I., Tannich, E., Leippe, M., Sicheritz-Ponten, T., Foster, P. G., Samuelson, J., Noel, C. J., Hirt, R. P., Embley, T. M., Gilchrist, C. A., Mann, B. J., Singh, U., Ackers, J. P., Bhattacharya, S., Bhattacharya, A., Lohia, A., Guillen, N., Duchene, M., Nozaki, T., and

Hall, N. (2007) Structure and content of the *Entamoeba histolytica* genome. *Adv. Parasitol.* 65, 51-190.

## (2) 学会発表

城戸康年、坂元君年、籾 義貞、鈴木高史、齋本博之、北 潔 薬剤標的としての Trypanosome Alternative Oxidase (TAO) の生化学的解析とその特異的阻害剤 Ascofuranone (AF) の実用化に向けて 第80回日本生化学会大会第・30回日本分子生物学会年会 合同大会平成19年12月

河原賢治、小林環、田中健、畑昌幸、北潔 ネズミマラリア原虫ミトコンドリア調製法の検討 第75回日本寄生虫学会総会 第80回日本生化学会大会第・30回日本分子生物学会年会 合同大会平成19年12月

藤岡 直、中村公亮、城戸康年、坂元君年、籾 義貞、鈴木高史、齋本博之、北 潔 アフリカトリパノソーマへのアスコフラノン/グリセロール in vitro 殺原虫併用効果におけるグリセロールの標的 第80回日本生化学会大会第・30回日本分子生物学会年会 合同大会平成19年12月

畑 昌幸、小林 環、田中 健、河原 賢治、北 潔 熱帯熱マラリア原虫からのミトコンドリア調製法の検討 第80回日本生化学会大会第・30回日本分子生物学会年会 合同大会 平成19年12月

栗野 睦美、網野比左子、石井直明、北 潔 線虫短寿命変異株 *mev-1* コハク酸-ユビキノン還元酵素 複合体 II の生化学的解析 第80回日本生化学会大会第・30回日本分子生物学会年会 合同大会平成19年12月

Kita, K. Parasite mitochondria as a target of chemotherapy VIII Central American and Caribbean Congress of Parasitology and Tropical Medicine 2007 Dec, Habana, Cuba

Kita, K. Diversity of parasite mitochondria: as a target of chemotherapy 10 IUBMB Conference and 36a. Annual Meeting of SBBq 2007 June Salvador, Brazil

Urine ELISA to monitor programs to eliminate lymphatic filariasis and to confirm elimination. Kimura E. The 13<sup>th</sup> Japan-Korea Parasitologists' Seminar (Forum Ch eju-13). 2007. Oct. (Chuncheon, Korea)

スリランカ南部マタラ地区におけるリンパ系フィラリア症集団治療のモニタリング. 伊藤誠, Weerasooriya MV, 磯貝芳徳, Mudalige P.S.M, Yahathugoda C, Islam MZ, 木村英作. 第76回日本寄生虫学会大会. 2007年3月 (大阪)

LAMP法を用いたリーシュマニア症診断法の開発. 高木秀和, 伊藤誠, Islam MZ, 木村英作. 第76回日本寄生虫学会大会. 2007年3月 (大阪)

Prediction of clinical visceral leishmaniasis cases in its early stages by rKRP4 2 urine-based ELISA. Islam MZ, 伊藤誠, Islam AU, Ekram A. R. M, 高木秀和, 橋口義久, 木村英作. 第48回日本熱帯医学会大会. 2007年10月 (大分)

ビルハルツ住血吸虫流行地に適したフィラリア症尿診断法の開発. 伊藤誠, Wamae N, 高木秀和, Kiliku FM, 青木克己, 木村英作. 第63回日本寄生虫学会西日本支部大会. 2007年11月 (高知)

Modulation of T-cell function during malaria infection; a study using OVA as a surrogate malaria antigen, D. Kimura, M. Miyakoda, K. Honma, M. Yuda, Y. Chinzei, K. Yui, 41<sup>st</sup> Joint Conference on Parasitic diseases Japan-United States cooperative medical science program, Tokyo, February 1-3, 2007.

マラリア感染におけるCD8<sup>+</sup>T細胞の活性化及びアポトーシス, 都田真奈, 木村大輔, 本間季里, 木村一美, 油田正夫, 鎮西康雄, 由井克之 第76回日本寄生虫学会大会, 大阪 2007年3月29、30日

Specific and non-specific activation of CD8<sup>+</sup> T-cells during malaria infection; implication for the pathogenesis of cerebral malaria, M. Miyakoda, D. Kimura, K. Honma, K. Kimura, K. Yui, 日本免疫学会学術集会, 2007年11月20日~22日, 東京

Regulation of T-cell responses during blood stage of Plasmodium berghei infection: an approach using OVA as a surrogate malaria antigen, K. Yui, 2<sup>nd</sup> Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases, 2007年11月26, 27日, 長崎大学

Malaria-specific and non-specific activation of CD8<sup>+</sup> T cells during blood stage of Plasmodium berghei infection, M. Miyakoda, D. Kimura, Y. Yuda, Y. Chinzei, K. Honma, K. Yui, Jan. 17-18, 2007, 42<sup>nd</sup> annual US-Japan parasitic diseases panel meeting.

米田頼晃, 城井啓, 廣瀬哲, 西浦亮子, 木下輝樹, 大浦元, 高木地孝, 山田哲, 石井望人, 西尾福真理子, 守屋圭, 福井博, 丸山治彦, 吉川正英 イヌ回虫幼虫ES抗原に対して高い抗体価を示した幼虫移行症の一例—ウシ生肝を食した焼鳥店勤務者のケース—臨床寄生虫学会 日本大学 東京 (2007)

奥村さやか, 成澤恵理子, 藤田明 感染から発症まで長期を要し, 胸水からの虫卵検出で診断されたウエステルマン肺吸虫症の一例臨床寄生虫学会 日本大学 東京 (2007)

大槻均, 金子修, 橘真由美, 入子英幸, 竹尾暁, 坪井敬文, Thongkukiatkul A, 鳥居本美

「0-5、ネズミマラリア原虫の赤血球結合分子相同体 EBL の局在」第76回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 p37、吹田 (2007. Mar. 29-30)

金玲、坪井敬文、竹尾暁、入子英幸、金子修、鳥居本美「P-4、新規熱帯熱マラリア感染阻止ワクチン候補抗原の探索」第76回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 p46、吹田 (2007. Mar. 29-30)

竹尾暁、金玲、坂本寛和、韓銀澤、入子英幸、金子修、鳥居本美、坪井敬文「P-5、熱帯熱マラリア原虫赤血球期発病阻止ワクチン：新規候補抗原分子の探索」第76回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 p47、吹田 (2007. Mar. 29-30)

Ghoneim A、金子修、坪井敬文、鳥居本美「P-31、熱帯熱マラリア原虫ロプトリー蛋白質 (RhopH 複合体) のロプトリー移行シグナル」第76回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 p53、吹田 (2007. Mar. 29-30)

入子英幸、金玲、金子修、韓銀澤、橘真由美、大槻均、竹尾暁、福本宗嗣、鳥居本美、坪井敬文「P-34、熱帯熱マラリア原虫は頻繁に選択的スプライシングを起こしている」第76回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 p54、吹田 (2007. Mar. 29-30)

Rungruang T, Putaporntip C, Jongwutiwes S, 金子修「三日熱マラリア原虫ロプトリータンパク質への選択圧」第15回分子寄生虫学ワークショップ 草津 (2007. Jul. 25-28)

Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A, Tachibana M, Otsuki H, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M. "Plasmodium falciparum rhoptry neck protein (PFRON2) expressed at both erythrocytic and pre-erythrocytic invasive parasites." *The 7th Awaji International Forum on infection and Immunity Awaji, Japan* (2007 Sep 2-5)  
Tsuboi T, Jin L, Takeo S, Iriko H, Kanek

o O, Sattabongkot J, Torii M. "Novel sporozoite antigen discovery of *Plasmodium falciparum* screened using human immunosera" *The 7th Awaji International Forum on infection and Immunity Awaji, Japan* (2007 Sep 2-5)

Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A, Tachibana M, Otsuki H, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M. "A complex formation of Rhoptry Neck Protein 2 with a microneme protein, AMA1, in *Plasmodium falciparum*." *The 13th Korea-Japan Parasitologists' seminar (Forum Cheju 13)*, Chuncheon, Korea (2007. Oct. 24).

金子修「マラリア原虫の赤血球侵入の分子基盤 —熱研での私的将来構想—」第6回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム 松山 (2007. Oct. 27-28)

Jin L, Takeo S, Iriko H, Kaneko O, Sattabongkot J, Torii M, Aguiar JC, Tsuboi T. "Novel sporozoite antigen discovery of *Plasmodium falciparum* screened using human immunosera" *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 56th annual meeting*, Philadelphia, USA (2007. Nov. 4-8).

金子修「マラリア原虫の赤血球侵入の分子基盤」第6回感染症沖縄フォーラム 北谷 (2008. Feb. 14-16)

熊谷 貴、長田良雄、金澤 保、太田伸生：日本住血吸虫ペルオキシレドキシンにおける抗酸化機能の解析。第18回日本生体防御学会学術総会、2007年7月、福岡市

熊谷 貴、下河原理江子、長田良雄、金澤 保、太田伸生：ペルオキシレドキシンを標的とした日本住血吸虫への *in vitro/in vivo* RNAi の検討。第30回日本分子生物学会、2007年12月、横浜市

熊谷 貴、長田良雄、下河原理江子、板橋明子、