

太田伸生:RNAiによる感染宿主内での日本住血吸虫ペルオキシレドキシンの機能解析。第76回日本寄生虫学会大会、2007年3月、大阪市

Ohmae H, Kirinoki M, Matsumoto J, Chigusa Y, Blas BL, Ducusin B, Sinuon M, Sochet D, Matsuda H. Comparison of schistosomiasis control programs in Southeast Asia; Impact of rainfall on control of schistosomiasis japonica in Philippines and that of schistosomiasis mekongi in Cambodia. the 7th international meeting of Regional network on asian schistosomiasis +, Lijiang, Yunnan, China, 5-7 September 2007.

Ohmae H, Sinuon M, Kirinoki M, Matsumoto J, Chigusa Y, Sochet D, Tsuyuoka R, Matsuda H. Control of *Schistosoma mekongi* in Cambodia: result of ten years of control activities and the future. The 42nd US-Japan Parasitic diseases meeting, Davis, California, USA 16-18 January 2008.

ウシバベシア症の簡易迅速診断法を目的とした mLAMP (multiplex Loop-mediated isothermal amplification) 法の確立。井関博ほか5名, 第76回日本寄生虫学会, 平成19年3月29-30日、吹田市。

システインプロテアーゼインヒビターによる *Babesia bovis* の増殖抑制効果について。大久保和洋ほか2名, 第76回日本寄生虫学会, 平成19年3月29-30日、吹田市。

Effects of cysteine protease inhibitors on the in vitro growth of *Babesia bovis*. 大久保和洋ほか2名。第143回日本獣医学会, 平成19年4月3-5日、つくば。

Development of real-time PCR assays for detection of *B. bovis* and *Babesia bigemina*. C. Kim ほか4名。第143回日本獣医学

会, 平成19年4月3-5日、つくば。

mLAMP (Multilex loop-mediated isothermal amplification) 法を用いたガーナ及びザンビア共和国におけるウシバベシア症の疫学。井関博ほか8名。第143回日本獣医学会, 平成19年4月3-5日、つくば。

Development of a Multiplex Loop-Mediated Isothermal Amplification (mLAMP) Method for Rapid Detection of Bovine *Babesia* parasites. 五十嵐郁男他6名。The 2nd Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases。平成19年10月8日。バンコック。

Development of an immuno-chromatographic test for the simultaneous serodiagnosis of bovine babesiosis. 五十嵐郁男ほか6名。42th Annual Meeting of the US/Japan Parasitic Diseases Joint Panels。平成20年1月16、17日、デビス。

Detection of malaria parasite by Microtiter plate hybridization in field collected *Anopheles* mosquitoes from a malaria endemic area of Bangladesh. Akter Tangin, Komochi Yuka, Wagatsuma Yukiko, Haque Rshidul, Hye-Sook Kim, Yusuke Wataya。日本薬学会第127年会、2007年3月27日～29日、富山。

新規抗マラリア薬の開発- 環状過酸化化合物の抗マラリア活性と体内動態- 小道由香、谷川菜津希、中瀬由佳里、Wu Jinming、益山新樹、野島正朋、川合覚、三谷公里栄、片岡洋行、金恵淑、綿矢有佑。日本薬学会第127年会、2007年3月27日～29日、富山。

抗マラリア作用を有する新規環状過酸化化合物の標的分子の探索。加藤邦泰、池田知里、平本昇子、Nagwa, S.M. Aly, 佐内仁美、Jinming Wu、益山新樹、野島正朋、平岡 修、金恵淑、綿矢有佑。第6回分子寄生虫・マラ

リア研究フォーラム、2007年10月27～28日、松山。

新規抗マラリア薬の開発研究- 環状過酸化化合物の抗マラリア活性と体内動態。中瀬由佳理、小道由香、犀川優、佐伯真希、谷川菜津希、Jinming Wu、益山新樹、野島正朋、川合覚、片岡洋行、三谷公里栄、金 惠淑、綿矢有佑。第6回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、2007年10月27～28日、松山。

Yoshimoto, T. (2007) Lipopolysaccharide induction of IgE by innate type 2 basophils. 2007 Keystone Symposia Conference. 1.20-24, Colorado, USA.

Sasaki, Y., Yoshimoto, T. and Nakanishi, K. (2007) IL-18 with IL-2 protects against *Strongyloides venezuelensis* infection by activating both IL-18-dependent and Th2 cell-dependent mastocytosis. 日米医学協力プログラム寄生虫専門部会 国内・合同会議, 2.2-3, 東京.

筒井ひろ子, 今村美智子, 中西憲司 (2007) Requirement of TRAM for caspase-1-dependent IL-18 secretion after stimulation with LPS. 第80回日本細菌学会総会, 3.26-28, 大阪.

Yoshimoto, T. (2007) IL-27 inhibits Th2 responses in vitro and in vivo by suppressing GATA-3; demonstration of its protective role against Leishmaniasis. 第76回日本寄生虫学会大会, 3.29-30, 大阪.

小坂 久, 善本知広, 中西憲司, 藤元治朗 (2007) 新しいマウス腹腔内癒着モデルの確立と癒着形成に関わる免疫学的要因の解析. 第107回日本外科学会定期学術集会, 4.11-13, 大阪.

中西憲司 (2007) 寄生虫感染と宿主応答. 特定領域研究「感染現象のマトリックス」第3回全体班会議, 5.12, 東京.

Kosaka, H., Yoshimoto, T., Nakanishi, K. and Fujimoto, J. (2007) Establishment of experimental surgical adhesion model and analysis of immunological mechanism underlying organ adhesion. 42nd Congress of the European Society for Surgical Research (ESSR), 5.23-26, Rotterdam, The Netherlands.

今村美智子, 安田好文, 筒井ひろ子, 中西憲司, 藤元治朗 (2007) lipopolysaccharide 刺激による Toll-like receptor を介した IL-18 の産生. 第43回日本肝臓学会総会, 5.31-6.1, 東京.

中西憲司 (シンポジウム) (2007) アレルギーの発症と感染- 自然免疫から-. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会, 6.10-12, 横浜.

善本知広 (シンポジウム) (2007) IL-18 を標的とした Th1 型アレルギー性炎症の治療. 第72回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会. 7.5-6, 京都.

中平 雅清, 田中貴志, Robson, B.E., Mizgerd, J.P., 中西憲司, Grusby, M.J. (シンポジウム) (2007) チロシン脱リン酸化酵素 PTP-BL による STAT シグナル伝達経路の制御. 第72回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 7.5-6, 京都.

今村美智子, 安田好文, 審良静男, 筒井ひろ子, 藤元治朗, 中西憲司 (シンポジウム) (2007) Lipopolysaccharide (LPS) 刺激による Toll-like receptor (TLR) を介した IL-18/1 β の分泌. 第72回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 7.5-6, 京都.

小坂 久, 善本知広, 藤元治朗, 中西憲司 (2007) マウス腹腔癒着モデルの確立と IFN- γ を中心とした癒着形成に関わる免疫学的要因の解析. 第72回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会. 7.5-6. 京都.

中西憲司 (シンポジウム) (2007) IL-18 中和による感染増悪型アレルギー性炎症の制御. 第 28 回日本炎症・再生医学会, 8.2-3, 東京.

中西憲司 (2007) IL-18 を標的とした炎症の制御. (特別講演) 第 8 回日本分子脳神経外科学会, 8.31-9.1, 兵庫.

Nakanishi, K. (Symposium) (2007) Regulation of host defense against helminthes and protozoa by IL-18 and IL-27. The 7th Awaji International forum on infection and immunity. 9.1-5, Hyogo.

安田好文, 佐々木由紀, 松本真琴, 善本知広,
中西憲司 (2007) IL-33 のマウス生体内投与は *Nb* 排虫作用を有する杯細胞を誘導する. 第 63 回日本寄生虫学会西日本支部大会, 10.6-7. 高知.

中西憲司 (2007) Induction of Th2/IgE-independent allergic inflammation by IL-18. (招待講演) 第 20 回内藤コンファレンス「自然免疫の医学・生物学 [Ⅲ]」, 10.9-12. 神奈川.

Tsutsui, H., Imamura, M., Yasuda, K., Akira, S. and Nakanishi, K. (2007) Contribution of TRIF to secretion of mature IL-1 β and IL-18 via the TLR-mediated Caspase-1 activation during extracellular bacterial infection in mice. 第 20 回内藤コンファレンス「自然免疫の医学・生物学 [Ⅲ]」, 10.9-12, 神奈川.

Imai, Y., Yasuda, K., Hayashi, N., Matsu moto, M., Yoshimoto, T., Mizutani, H. and Nakanishi, K. (2007) DC cultured with Alum and OVA principally induce Th2 cells in vivo. 第 20 回内藤コンファレンス「自然免疫の医学・生物学 [Ⅲ]」, 10.9-12, 神奈川.

Imamura, M., Yasuda, K., Akira, S., Fuji

moto, J., Tsutsui, H. and Nakanishi, K. (2007) Requirement of TRIF for Caspase-1-dependent secretion of IL-18/IL-1 β upon TLR3 engagement in mice. 第 20 回内藤コンファレンス「自然免疫の医学・生物学 [Ⅲ]」, 10.9-12, 神奈川.

中西憲司 (2007) 蠕虫感染と宿主応答. 「感染現象マトリックス」横糸の会: 「蠕虫宿主応答の特殊性と普遍性」, 10.16-17. 神戸.

安田好文 (2007) IL-33 のマウス生体内投与は *Nb* 排虫作用を有する杯細胞を誘導する. 「感染現象マトリックス」横糸の会: 「蠕虫宿主応答の特殊性と普遍性」, 10.16-17. 神戸.

中西憲司 (シンポジウム) (2007) IL-18 中和による感染増悪型気管支喘息の制御. 第 35 回日本臨床免疫学会総会, 10.19-20, 大阪.

善本知広, 善本隆之, 安田好文, 水口純一郎,
中西憲司 (ワークショップ) (2007) IL-27 suppresses Th2 cell development as well as Th2 cytokines production from polarized Th2 cells; a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation. 第 35 回日本臨床免疫学会総会, 10.19-20, 大阪.

今井康友, 安田好文, 林 伸樹, 松本真琴, 善本知広, 水谷 仁, 中西憲司 (ワークショップ) (2007) ナイーブマウスに移入された抗原と Alum でパルスされた DC は Th2 細胞を Caspase-1 非依存性に誘導する. 第 35 回日本臨床免疫学会総会, 10.19-20, 大阪.

松葉沙織, 善本知広, 安田好文, 池田誠宏, 三村 治, 中西憲司 (ワークショップ) (2007) アレルギー性結膜炎に対する IL-33 の病的役割の基礎的解析. 第 35 回日本臨床免疫学会総会, 10.19-20, 大阪.

小坂 久, 善本知広, 藤元治朗, 中西憲司 (ワークショップ) (2007) NKT 細胞由来の IFN- γ を中心とした術後癒着形成に関わる免

疫学的要因の解析. 第35回日本臨床免疫学会総会, 10.19-20, 大阪.

今村美智子, 藤元治朗, 安田好文, 中西憲司, 審良静男, 筒井ひろ子 (2007) Lipopolysaccharide(LPS)刺激による Toll-like receptor(TLR)を介した IL-18/1 β の分泌. 第13回日本エンドトキシン研究会, 10.19-20, 鹿児島.

中西憲司 (2007) アトピー性皮膚炎と気管支喘息において super Th1 が果たす役割. (特別講演)第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 11.1-3, 横浜.

善本知広, 中西憲司 (シンポジウム) (2007) IL-18 を標的とした Th1 型アレルギー性炎症の治療的戦略. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 11.1-3, 横浜.

林 伸樹, 黒田麻衣, 田中英久, 中西憲司 (ミニシンポジウム) (2007) Th1 型気管支喘息の病態と発症メカニズムの解析. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 11.1-3, 横浜.

松葉沙織, 善本知広, 安田好文, 池田誠宏, 三村 治, 中西憲司 (2007) アレルギー性結膜炎に対する IL-33 の病因的役割の基礎的解析. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 11.1-3, 横浜.

今井康友, 安田好文, 林 伸樹, 松本真琴, 善本知広, 水谷 仁, 中西憲司 (2007) マウスに移入された抗原と Alum でパルスされた DC は Th2 細胞を Caspase-1 非依存性に誘導する. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 11.1-3, 横浜.

Imamura, M., Yasuda, K., Fujimoto, J., Akira, S., Tsutsui, H. and Nakanishi, K. (2007) Contribution of TRIF to secretion of mature IL-1 β and IL-18 via the TLR-mediated caspase-1 activation during extracellular bacterial infection in mice.

58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), 11.2-6, Boston, U.S.A.

Yoshimoto, T., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Mizoguchi, J. and Nakanishi, K. (ワークショップ) (2007) IL-27 suppresses Th2 cell development as well as Th2 cytokines production from polarized Th2 cells; a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

Nakahira, M., Tanaka, T., Robson, B.E., Mizgerd, J.P., Nakanishi, K. and Grusby, M.J. (ワークショップ) (2007) Regulation of STAT signaling by the tyrosine phosphatase PTP-BL. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

松葉沙織, 善本知広, 安田好文, 池田誠宏, 三村 治, 中西憲司 (ワークショップ) (2007) 花粉で惹起される実験的アレルギー性結膜炎は IL-33 で増悪する. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

安田好文, 佐々木由紀, 松本真琴, 善本知広, 中西憲司 (ワークショップ) (2007) IL-33 は正常マウスに杯細胞を誘導し, *Nippostrongylus brasiliensis* 排虫作用を誘導できる. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

山田 潤, 羽室敦爾, 中西憲司, 安田好文, 樗木俊聡, 木下 茂 (2007) IL-12/IL-18 非依存性の全層角膜移植拒絶反応の検討. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

Imai, Y., Yasuda, K., Hayashi, N., Matsumoto, M., Yoshimoto, T., Mizutani, H. and Nakanishi, K. (2007) Transferred Antigen(Ag)/Alum-DCs induce Ag-specific Th2 cells in a naïve mouse without help from caspase-1-activated cytokines. 第37回日

本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

Kosaka, H., Yoshimoto, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. (2007) NKT cell-driven IFN- γ plays an important role in postoperative adhesion formation. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

Imamura, M., Yasuda, K., Akira, S., Fujimoto, J., Tsutsui, H. and Nakanishi, K. (2007) Contribution of TRIF to secretion of mature IL-1 β and IL-18 via the TLR-mediated caspase-1 activation during extracellular bacterial infection in mice. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 11.20-22, 東京.

中西憲司 (2007) 寄生虫感染と宿主応答. 第一回蠕虫研究会, 11.26-27, 宮崎.

善本知広, 中西憲司 (2007) 術後腸管癒着形成の発症機序の解明とその制御法の確立.

「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第4回公開シンポジウム, 12.14, 東京.

安田好文, 善本知広, 今村美智子, 筒井ひろ子, 杉村和久, 中西憲司 (2007) IL-18を標的としたアレルギー性炎症の制御. 「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第4回公開シンポジウム, 12.14, 東京.

吉原 忍、服部順子、西菌一也、川村彩乃、西田由美、小田憲司、平山紀夫、辻 尚利. 豚回虫人工感染鶏における幼虫の消長と肝病変. 第144回日本獣医学会学術集会. p.168.

MIHOKO KIKUCHI, CHEN HONGGEN, XIE SHUYING, GE JUN, DAN DAN LIN, KENJI HIRAYAMA. : 日本住血吸虫の感染負荷量を決定する循環抗原測定系の開発 第76回日本寄生虫学会 平成19年3月29-30日、大阪大学コンベンションセンター、大阪府

MIHOKO KIKUCHI, CHEN HONGGEN, XIE SHUYING, GE JUN, DAN DAN LIN, KENJI HIRAYAMA.

: Development of diagnostic ELISA system that detects active infection with *S. japonicum*. 第48回日本熱帯医学会 平成19年10月12-13日、別府市ビーコンプラザ、大分県.

Abdel-Hafeez E. Hamed, Mihoko Kikuchi, Kanji Watanabe, Takashi Itoh, Kenji Hirayama. : Proteome approach for Identification of protective vaccine candidate antigens for *Schistosoma japonicum* Infection. 第48回日本熱帯医学会 平成19年10月12-13日、別府市ビーコンプラザ、大分県.

菊池三穂子 エクラス・ハメド・ハーフィス、渡部幹次、伊藤敬、平山謙二. 日本住血吸虫の放射線照射セルカリアに誘導される感染防御機構の解析 第6回分子寄生・マラリア研究フォーラム 平成19年10月27-28日、松山市男女共同参画推進センター、愛媛県

Kenji Hirayama, Abdel-Hafeez E. Hamed, Mihoko Kikuchi, Kanji Watanabe, Takashi Itoh, Proteome approach for Identification of protective vaccine candidate antigens for *Schistosoma japonicum* Infection. 42nd Annual US-JAPAN parasitic diseases meeting. JAN. 17-18, 2008. Davis, CA, USA

中尾亮, 水上智秋, 川村悠太, スベキ, S. ボン, 山崎真大, 前出吉光, 松浦英幸, 高橋公咲, 鍋田憲助, 片倉賢: 薬用植物由来天然化合物 bruceine A のイヌ・バベシア症に対する治療効果 第144回日本獣医学会, 2007年9月 (江別)

川村悠太, 吉川功, 片倉 賢: 日本国内で発症した犬リーシュマニア症 第144回日本獣医学会, 2007年9月 (江別)

大槻均、金子修、橘真由美、入子英幸、竹尾暁、坪井敬文、Thongkukiattkul Amporn、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 第76回日本寄生虫学会大

会、大阪市 (2007, 03, 29-30)

2) Palacipac NQ, Arisue N, Tanabe K, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M, Udomsangpetch R, Hotii T Polymorphism in malaria antigens and microsatellite markers of *Plasmodium vivax*: a parasite strategy for survival? 第76回日本寄生虫学会大会、大阪市 (2007, 03, 29-30)

鉄谷耕平、藤秀人、鳥居本美、久枝一、姫野國祐 Malaria parasite induces tryptophan-related immune suppression in mice. 第76回日本寄生虫学会大会、大阪市 (2007, 03, 29-30)

金玲、坪井敬文、竹尾暁、入子英幸、金子修、鳥居本美、新規熱帯熱マラリア感染阻止ワクチン候補抗原分子の探索 第76回日本寄生虫学会大会、大阪市 (2007, 03, 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 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、大阪市 (2007, 03, 29-30)

Ghoneim A、金子修、坪井敬文、鳥居本美 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、大阪市 (2007, 03, 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 熱帯熱マラリア原虫は頻り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、大阪市 (2007, 03, 29-30)

高本美佐、矢野弘子、溝渕俊二、長龍充、Susiji W、Lalani Y、鳥居本美、坪井敬文、笹栗志郎、渡部嘉哉、吾妻美子、吾妻健 ソフィβ-グルカンによるNK細胞活性を利用した *Plasmodium yoelii* 感染に対する効果 第76回日本寄生虫学会大会、大阪市 (2007, 03, 29-30)

Cao J, Kaneko O, Thongkukiattkul 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, (September 4-7, 2007)

Tsuboi T, Jin L, Takeo S, Iriko H, Kaneko 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, (September 4-7, 2007)

Cao J, Kaneko O, Thongkukiattkul A, Tachibana M, Otsuki H, Tsuboi T, Torii M A complex formation of rhoptry neck protein 2 with a microneme protein, AMA 1, in *Plasmodium falciparum*. 第6回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山 (2006. 10. 27-28)

橘真由美、永徳千穂、大槻均、Sattabongkot J、鳥居本美、坪井敬文 生殖母体抗原 Pvs230 を標的とする新規三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン 第6回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山 (2006. 10. 27-28)

竹尾暁、坂本寛和、橘真由美、鳥居本美、坪井敬文 コムギ胚芽無細胞系を用いた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6回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山 (2006. 10. 27-28)

河津信一郎、矢野和彦、大槻均、新井明治、坪井敬文、鳥居本美、駒木-コムギ胚芽無細胞系を用いた新規マラリア安田加奈子、狩野繁之 2-Cys 型ペルオキシレドキシン (TPx-1) ノックアウトがマラリア原虫の哺乳類体内での発育に及ぼす影響の解析 第6回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山 (2006. 10.

Kawazu S, Yano K, Otsuki H, Arai M, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S. Disruption of 2-Cys peroxiredoxin TPX-1 gene in *Plasmodium berghei* hinders the sporozoite development. 56th Annual Meeting of ASTMH, Philadelphia, USA (November 4- 8, 2007)

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 antisera. 56th Annual Meeting of ASTMH, Philadelphia, USA (November 4- 8, 2007)

Tachibana M, Eitoku C, Otsuki H, Sattabongkot J, Torii M, Tsuboi T Transmission-blocking activity of DNA vaccine encoding *Plasmodium vivax* gametocyte protein Pvs230. 56th Annual Meeting of ASTMH, Philadelphia, USA (November 4- 8, 2007)

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.

Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program. Tokyo, Japan, February 1-3, 2007.

Tsuboi T. Wheat germ cell-free translation system: An application to the genome-wide screening for novel malaria vaccine candidates.

Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program. Tokyo, Japan, February 1-3, 2007.

Cao J, Kaneko O, Thongkukiattkul A, Tachi

hana 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. September 4-7, 2007.

Tsuboi T, Jin L, Takeo S, Iriko H, Kaneko 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. September 4-7, 2007.

Kawazu S, Yano K, Otsuki H, Arai M, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S.

Disruption of 2-Cys peroxiredoxin TPX-1 gene in *Plasmodium berghei* hinders the sporozoite development. ASTMH 56th annual meeting, Philadelphia, USA, November 4-8, 2007.

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 antisera. ASTMH 56th annual meeting, Philadelphia, USA, November 4-8, 2007.

Takeo S, Hisamori D, Matsuda S, Vinetz J, Sattabongkot J, Tsuboi T. Chitinase: an active recombinant protein from *Plasmodium vivax*. ASTMH 56th annual meeting, Philadelphia, USA, November 4-8, 2007.

Tachibana M, Eitoku C, Otsuki H, Sattabongkot J, Torii M, Tsuboi T. Transmission-blocking activity of DNA vaccine encoding *Plasmodium vivax* gametocyte protein Pvs230. ASTMH 56th annual meeting, Philadelphia, USA, November 4-8, 2007.

大槻均、金子修、橘真由美、入子英幸、竹尾

暁、坪井敬文、Thongkukiatkul Amporn、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
第 76 回日本寄生虫学会大会、大阪、3/29-30、2007。

Palacipac NQ, Arisue N, Tanabe K, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M, Udomsangpetch R, Horii T
Polymorphism in malaria antigens and microsatellite markers of *Plasmodium vivax*: a parasite strategy for survival?
第 76 回日本寄生虫学会大会、大阪、3/29-30、2007。

金玲、坪井敬文、竹尾暁、入子英幸、金子修、鳥居本美
新規熱帯熱マラリア感染阻止ワクチン候補抗原分子の探索
第 76 回日本寄生虫学会大会、大阪、3/29-30、2007。

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
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、大阪、3/29-30、2007。

Ghoneim A、金子修、坪井敬文、鳥居本美
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、大阪、3/29-30、2007。

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 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、大阪、3/29-30、2007。

高本美佐、矢野弘子、溝渕俊二、長龍充、Susiji W、Lalani Y、鳥居本美、坪井敬文、笹栗志郎、渡部嘉哉、吾妻美子、吾妻健

ソフィ β-グルカンによる NK 細胞活性を利用した *Plasmodium yoelii* 感染に対する効果
第 76 回日本寄生虫学会大会、大阪、3/29-30、2007。

坪井敬文、竹尾 暁、鳥居本美
マラリアワクチン研究へのコムギ無細胞法の応用 第 15 回分子寄生虫学ワークショップ、草津、7/25-28、2007。

坂本寛和、竹尾 暁、松岡和弘、橘真由美、澤崎達也、坪井敬文
新規マラリアワクチン候補抗原探索へ向けたハイスループットスクリーニング法の開発
第 15 回分子寄生虫学ワークショップ、草津、7/25-28、2007。

伊藤大輔、韓 銀澤、竹尾 暁、坪井敬文
単クローン抗体を用いた熱帯熱マラリア原虫メロゾイト先端部小器官の新規分子の同定
第 15 回分子寄生虫学ワークショップ、草津、7/25-28、2007。

Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A, Tachibana M, Otsuki H, Tsuboi T, Torii M.
A complex formation of rhoptry neck protein 2 with a microneme protein, AMA 1, in *Plasmodium falciparum*.
第 6 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山、10/27-28、2007。

橘真由美、永徳千穂、大槻均、Sattabongkot J、鳥居本美、坪井敬文
生殖母体抗原 Pvs230 を標的とする新規三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン
第 6 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山、10/27-28、2007。

竹尾暁、坂本寛和、橘真由美、鳥居本美、坪井敬文 コムギ胚芽無細胞系を用いた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 6 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山、10/27-28、2007。

河津信一郎、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 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哺乳類体内
での発育に及ぼす影響の解析 第 6 回分子寄
生虫・マラリア研究フォーラム、松山、10/2
7-28、2007。

竹尾 暁、久森大輔、松田周作、Joseph Vin
etz、Jetsumon Sattabongkot、坪井敬文
コムギ無細胞系を用いた三日熱マラリア原虫
キチナーゼタンパク質の合成と解析
第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本
生化学会大会、合同大会、横浜、12/11-15、2
007。

(3) 特許、知財
なし。

「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」

分担研究報告書

住血吸虫症の免疫遺伝学的解析

分担研究者 平山 謙二 長崎大学・熱帯医学研究所・疾病生態分野 教授

研究要旨

住血吸虫症は中間宿主の淡水産巻貝から放出される感染型幼虫（セルカリア）の経皮感染によって引き起こされるぜん虫感染症で中国揚子江流域、フィリピンなどに分布する日本住血吸虫症とアフリカ、中南米に分布するマンソン住血吸虫症が重要である。本研究で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。

A. 研究目的

日本住血吸虫症はマンソンやビルハルツ住血吸虫とは異なり、ヒト以外の終宿主となる動物種が多数存在する。ヒトの感染がよくコントロールされている中国やフィリピンにおいても水牛、家豚、犬などが汚染地域における流行を維持していることから、動物を対象としたワクチン開発への期待は大きい。これまで、有効なワクチンは開発されていないが、ガンマ線照射処理を施した不活化感染型幼虫セルカリアワクチンにより感染防御免疫が成立することは知られている。そこで、この不活化ワクチンの効果を再現するようなワクチン分子を同定することを目的とした。

B. 研究方法

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住血吸虫抗原分画の同定を試みた。γ線照射セルカリア免疫ミニブタの血清が可溶性虫卵・虫体

抗原蛋白ペプチドに反応することは、昨年度に行なったウエスタンブロットの結果から明らかとなっている。この反応性の蛋白を解析するために、虫卵及び虫体の可溶性抗原分画を二次元液体クロマトグラフィーシステム（2D-PF, BECKMAN Coulter 社）で分画した後、抗体の反応性が認められる分画蛋白から、感染防御に関わるワクチン候補分子の同定を試みた。反応性分画の N 末端アミノ酸配列を決定し、この結果をデータベースを用いて相同性検索を行い、候補分子を決定後、発現ステージを確認し、この組み換え蛋白を作製し血清との反応性を確認することにより、候補分子を同定した。

C. 結果

放射線照射セルカリア免疫したミニブタ血清は、虫卵由来分画 2496 分画中から 61 分画に対して反応性が認められた。このうちシングルピークの 17 分画について N 末端アミノ酸配列の決定を試みた。虫卵由来分画の F29.2E（pH<4.8）：

MCVLPVD、F2.3D (pH 8.49-8.4) :
MAVLPPIIYKYL のアミノ酸配列を得ること
ができた。

F2. 3D/ SEA

1. AAW27472.1 (312 bp)



Figure 1. RT-PCR amplification of the selected candidate genes from different developmental stages of *S. j.*

PCR fragments with expected size amplified from the different stages of the *S. j* were obtained using primer sets designed from data base. Lane 1: molecular weight maker. Lane 2: egg. Lane 3: cercariae. Lane 4: 24hs cultured schistosomula. Lane 5: adult worm. (E) *Schistosoma japonicum* actin gene.

2 分画から得られたアミノ酸配列の相同性検索の結果と得られた候補遺伝子から演繹したアミノ酸配列から想定される蛋白の等電点 (pI) の情報を元にそれぞれ 2 候補分子を決定した。

これらの候補分子の虫卵、幼虫、成虫の各ステージにおける発現を確認した (図 1)。虫卵ステージ以外でも発現が確認できた **AAW27472.1** について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が反応し、通常感染ミニブタ血清では反応が認められないことを確認した (図 2)

同様に虫体由来の分画抗原に対しても同様のスクリーニングを行ない、1449 分画中から 61 分画に対して反応性が認められた。

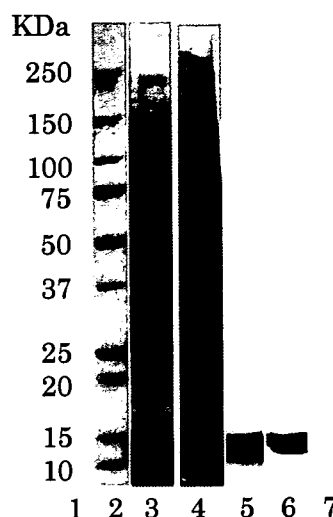


Figure 2. Recombinant Protein expression of AAW27472.1 and its reactivity with RAC vaccinated serum.

このうちシングルのピークの 10 分画から虫体由来分画の F12.H1 (pH 8.40 - 8.10) : VPTNQN, F12.F1 (pH 8.40 - 8.10) : KRRGPPGEER 2 分画について N 末端アミノ酸配列が決定し相同性検索の結果から、それぞれ 2 候補分子の各ステージにおける発現を確認した。

D. 考察

新たなワクチン候補蛋白は、26%程度 of マンソン住血吸虫のカテプシン B との相同性が認められた。しかしながら、相同性が低いこと、また、蛋白機能については未知であることから、今後、組み換え蛋白を大量発現させた上で、抗体を作成するなどの方法を用いてその蛋白の機能、あるいは発現部位について解析する必要性があると考えられた。

E. 結論

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い、反応性を示した虫卵由来の分画から新規ワクチン候補として、**AAW27472.1** が同定することができた。今後、感染防御ワクチンと

しての効果について解析を進める予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

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 parasitologica*, vol. 53, number 1, 2008. in press.

2. 学会発表

MIHOKO KIKUCHI, CHEN HONGGEN, XIE SHUYING, GE JUN, DAN DAN LIN, KENJI HIRAYAMA. : 日本住血吸虫の感染負荷量を決定する循環抗原測定系の開発 第76回日本寄生虫学会 平成19年3月29-30日、大阪大学コンベンションセンター、大阪府

MIHOKO KIKUCHI, CHEN HONGGEN,

XIE SHUYING, GE JUN, DAN DAN LIN, KENJI HIRAYAMA. : Development of diagnostic ELISA system that detects active infection with *S. japonicum*. 第48回日本熱帯医学会 平成19年10月12-13日、別府市ビーコンプラザ、大分県.

Abdel-Hafeez E. Hamed, Mihoko Kikuchi, Kanji Watanabe, Takashi Itoh, Kenji Hirayama. : Proteome approach for Identification of protective vaccine candidate antigens for *Schistosoma japonicum* Infection. 第48回日本熱帯医学会 平成19年10月12-13日、別府市ビーコンプラザ、大分県.

菊池三穂子 エクラス・ハメド・ハーフィス、渡部幹次、伊藤敬、平山謙二.. 日本住血吸虫の放射線照射セルカリアに誘導される感染防御機構の解析 第6回分子寄生・マラリア研究フォーラム 平成19年10月27-28日、松山市男女共同参画推進センター、愛媛県

Kenji Hirayama, Abdel-Hafeez E. Hamed, Mihoko Kikuchi, Kanji Watanabe, Takashi Itoh, Proteome approach for Identification of protective vaccine candidate antigens for *Schistosoma japonicum* Infection. 42nd Annual US-JAPAN parasitic diseases meeting. JAN. 17-18, 2008. Davis, CA, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

原虫症治療標的分子の機能解析

分担研究者 北 潔 東京大学大学院医学系研究科

研究要旨 寄生虫原虫のミトコンドリア呼吸鎖は宿主哺乳類のミトコンドリアと大きく異なった性質を持ち、特異的阻害剤による抗寄生虫薬の重要な標的となる事が明らかになった。

B. 研究方法

A. 研究目的

われわれは寄生適応に必須な基本的要素である各種代謝系のなかでも特にエネルギー代謝系に焦点を絞り、寄生虫ミトコンドリアが宿主と極めて異なったエネルギー代謝系を作動させることによって宿主内の環境に適応していることを明らかにしてきた。この成果をふまえマラリア原虫やトリパノソーマのミトコンドリア電子伝達系の特異性を解析することにより、最終的に化学療法の標的として捉えたいと考えている。そこで、熱帯熱マラリア原虫におけるエネルギー代謝系を先端的なエネルギー転換系研究の視点から追求し、さらにトリパノソーマなど他の寄生原虫も含め寄生現象全般に共通する適応戦略の分子基盤とその多様性を明らかにする事を目的として研究を進めている。

赤血球内型マラリア原虫ミトコンドリアの呼吸鎖電子伝達系は化学療法剤の標的として期待されている。しかしマラリア原虫ミトコンドリアに関する情報は非常に限られたものであり、これが研究の進展を妨げている。そこで活性を保持したミトコンドリアの単離法を確立し、各種阻害剤の効果を生化学的な解析を可能にした。一方、最近マラリア原虫にはアピコプラストと呼ばれる 35 kb の環状 DNA を持つオルガネラが存在し、マラリア原虫の増殖に必須な機能を有している事が判って来た。また、電子顕微鏡による観察から両者が細胞の中で常に近傍に局在している事が報告されている。そこで昨年度の成果をふまえ、引き続きこの2つのオルガネラの相互作用を調べ、さらにそれぞれの機能を独立に解析する目的で細胞分画における挙動を調べた。

また、アフリカトリパノソーマに関しては、極めて低濃度で効果を示す抗トリパノソーマ薬アスコフラノンの標的であるシアン耐性酸化酵素のタンパク質としての性質を調べる目的で、昨年度は組換え酵素を用い高純度で高活性の酵素の精製法を確立した。今年度はこの精製標品を用いて、その酵素学的性質、またアスコフラノンによる阻害機構、さらに立体構造を調べる目的で結晶化を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究はすべてが *in vitro* の実験系であり、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

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_2 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。

D. 考察

マラリア原虫のアピコプラストが常にミトコンドリアの近傍に局在している事は以前から判っていたが、その生理的意義は不明であった。これまでの結果から、その相互作用はかなり強固であり、生理的にも意義がある事が示唆されていたが、今回の結果はその相互作用に細胞骨格が関与している可能性を強く示唆している。

我々が開発中のアスコフラノン、
現在最も強力な抗トリパノソーマ薬
とされ、その標的はトリパノソーマの
ミトコンドリアに局在するシアン耐
性酸化酵素である。しかしそのタンパ
ク質としての性質は酵素が極めて不
安定であるため、ほとんど判っていな
かった。今回の結果はアスコフラノン
が基質であるユビキノンの結合部位
の近傍に結合し、酵素活性を阻害して
いる事を示している。良質の結晶を用
いた構造解析の結果と合わせ、構造活
性相関解析から、より合成ステップ数
の少ないアスコフラノン誘導体を合
成し、実用化に結びつける事が可能に
なると考えられる。

E. 結論

寄生虫原虫のミトコンドリア呼吸
鎖は宿主哺乳類のミトコンドリアと
大きく異なった性質を持ち、特異的阻
害剤による抗寄生虫薬の重要な標的
となる事が明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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

- 2) 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., Bjorkman, A., and
Kobayakawa, T. (2007)
Antimicrob. Agents. Chemother.
51, 1071-1077
- 3) Parasitology in Japan: Advances
in drug discovery and
biochemical studies. Kita, K.,
Shiomi K., and Ōmura, S.
(2007) Trends in Parasitol. 23,
223-229
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) Mutation underlying resistance of *Plasmodium berghei* to atovaquone in the quinone binding domain 2 (Qo₂) of the cytochrome *b* gene. Siregar J. E., Syafruddin D., Matsuoka H., Kita K., and Marzuki S. *Parasitol. Int.* 印刷中
2. 学会発表
- 1) 城戸康年、坂元君年、藪 義貞、鈴木高史、斎本博之、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
- 2) 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
- 3) 藤岡 直、中村公亮、城戸康年、坂元君年、藪 義貞、鈴木高史、斎本博之、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
- 4) 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

- 5) 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

- 6) Kita, K. Parasite
mitochondria as a target of

chemotherapy VIII Central
American and Caribbean
Congress of Parasitology and
Tropical Medicine 2007 Dec,
Habana, Cuba

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

- H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

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・分担）研究報告書

マラリアの病態解明と予防・治療戦略開発に関する研究

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 三田村俊秀 国立国際医療センター研究所 室長

研究要旨：赤血球期熱帯熱マラリア原虫の細胞増殖の‘key molecule’の一つである血清中脂肪酸（パルミチン酸とオレイン酸）の原虫の細胞周期進行とそれにもなう形態変化における役割について解析を行った。オレイン酸と同じ炭素鎖長であるが、不飽和の位置と数が異なる不飽和脂肪酸（バクセン酸とリノール酸）をそれぞれ飽和脂肪酸であるパルミチン酸と組み合わせて脂質を保持しないウシ血清アルブミンに結合させ、これらを含む無血清培地における原虫の増殖について同調培養系を用いて解析した。形態変化を伴う細胞周期の進行について、形態の異常、同調性の維持、感染率の変化などについて、画像解析を含めて定量化した結果、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。

A. 研究目的

マラリアの臨床症状とその複雑な病理は、病原因子であるマラリア原虫が生活環境中の赤血球サイクルに入ることにより生じる。したがって、そのステージの原虫の細胞増殖を押さえることが、直接の予防・治療戦略となる。私達は、赤血球期熱帯熱マラリア原虫の細胞増殖と脂質代謝・輸送との関連に着目し、それらを支えるユニークな分子機構について研究を継続している。

これまでの私達の研究により、血清中脂肪酸（パルミチン酸、オレイン酸）が、赤血球期熱帯熱マラリア原虫の細胞増殖の‘key molecule’の一つである事が明らかにされている。本分担課題においては、これら細胞増殖必須因子の原虫の細胞周

期進行とそれにもなう形態変化における役割についての解析を行った。

B. 研究方法

飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸それぞれ1種類ずつを、脂質を保持しないウシ血清アルブミン（BSA）に再結合させた後、基礎培地に添加した無血清培地により、4時間以内に同調させた熱帯熱マラリア原虫培養を培養する。尚、飽和脂肪酸としては、‘key molecule’の一つであるパルミチン酸（C_{16:0}）を、そのパートナーとしての不飽和脂肪酸は、もう一つの‘key molecule’であるオレイン酸（C_{18:1, n-7}）との詳細な比較をするために、炭素鎖長が同じ18であり、不飽和の位置とその数がそれぞれ異なるバクセン酸（C_{18:1, n-7}）とリノール酸（C_{18:2, n-7}）を用いた。

ル酸 ($C_{18:2, n-6}$) を用いた。各種の条件で培養を行い、計時的にサンプリング後、各時間における原虫感染率、原虫細胞の形態の正常・異常などを定量化した。同時に各時間における原虫の形態を画像化した。(倫理面への配慮)

全ての実験は国立国際医療センター研究所のバイオセーフティー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

$C_{16:0}/C_{18:1, n-7}$ を再結合させた BSA を含む無血清培地で培養した原虫は、サイクルごとに対数的に増殖するのに対して、 $C_{16:0}/C_{18:1, n-7}$ を再結合させた BSA を含む無血清培地で培養した原虫は、2 サイクルに相当する 96 時間まで $C_{16:0}/C_{18:1, n-9}$ を含む培地で培養した原虫同様の増殖を示すが、その後増殖が停止する。また、 $C_{16:0}/C_{18:2, n-6}$ を再結合させた BSA を含む無血清培地で培養した原虫は、1 サイクル目の 20 時間以降から感染率の減少が観察される。

このような $C_{16:0}/C_{18:1, n-7}$ 、 $C_{16:0}/C_{18:2, n-6}$ を含む培地で見られる原虫の増殖の悪化は、これらの培養においては、異常な形態を示す原虫の比率が、 $C_{16:0}/C_{18:1, n-9}$ の場合に比べて明らかに増大しているためであることが、細胞の形態観察の定量化により確認できた。さらに、赤血球サイクルのステージごとの定量的原虫数を精査することにより、 $C_{16:0}/C_{18:1, n-9}$ を含む培地で培養した原虫は、その同調度合いを保ちながらサイクルを進行させながら、結果的に対数増殖していくのに対して、 $C_{16:0}/C_{18:1, n-7}$ 、 $C_{16:0}/C_{18:2, n-6}$ を含む培地で培養した原虫は、同調度合いが崩れていくと同時に細胞増殖が悪くなることが明らかとなった。また、これら 2 種類の培養

においては、異常な形態を示す原虫細胞の出現時期と頻度が、細胞増殖の悪化の時期と対応することが明らかとなった。

以上の結果から、赤血球サイクルの形態変化を伴う細胞周期の進行の同調性を維持するためには、炭素鎖長が 18 であるのみならず、不飽和の数と位置が厳密に要求されることが示された。

E. 結論

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 ($C_{18:1, n-9}$) は欠くことのできない血清中因子の一つであることが明らかとなった。

F. 健康危険情報 (省略)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. F. Mi-Ichi, S. Kano and T. Mitamura. Oleic acid is indispensable for intraerythrocytic proliferation of *Plasmodium falciparum*. *Parasitology* 134; 1671-1677, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

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。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これまでに成功している。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。

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149種発現した。本年度は、合成した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