

病原体媒介性節足動物（ベクター）由来生物活性分子の機能探索の結果、マダニの消化器官（中腸）より、カテプシンL様システインプロテアーゼを分離した。マダニカテプシンLはヘモグロビナーゼ活性を有し、マダニ吸血時に発現増強されることから、血液消化に関与すると考えられた。また、マダニ唾液腺からはカテプシン等に阻害作用を示すシスタチン様システインプロテアーゼインヒビターが分離された。これらの知見より、マダニ個体において、システインプロテアーゼとその内在性阻害剤が、血液消化や宿主への付着に深く関与することが示唆された。

#### A. 研究目的

本研究では、宿主体内への寄生（内部寄生虫）及び体表への寄生（外部寄生虫）に適応した巧妙な生残戦略を備えていると想定される線虫類と媒介節足動物が産生する遺伝子産物の機能解明を実施する。これによって、線虫及び媒介者の生存・侵入・存続に不可欠な分子機構を阻害することのできる新しい寄生虫感染及び伝搬防除技術を確立する。

#### B. 研究方法

病原体媒介者であるマダニを用いて、マダニが産生する生物活性分子（TBM）の機能を生化学・細胞生物学的及び *in vivo*での内在機能を明らかにするため組換え TBM とマダニ-哺乳類宿主系を用いた解析を行った。

- 1) 国内最優占種であるフタトゲチマダニの TBM をコードする EST データベースよりカテプシン L 遺伝子およびシスタチン遺伝子を分離した。
- 2) 宿主ウサギに付着・吸血させたマダニを経時的に回収し、定量 PCR 法を用いてマダニカテプシン L・マダニシスタチンの発現動態を検討した。
- 3) 分離した cDNA 配列のうち、成熟蛋白質をコードする領域をプラスミドベクター（pColIdTF、pGEX6P-1）に挿入し、大腸菌発現系にて組換えカテプシンおよびシスタチンを作製した。
- 4) 上記の組換え体を精製し、マウスに免疫して抗血清を作製した。
- 5) 吸血したマダニを固定・包埋して薄切し、免疫組織化学及び免疫蛍光抗体法を用いて、内

在性カテプシン L およびシスタチンのマダニ個体での局在を、細胞生物学的に検討した。

- 6) マダニカテプシン L の加水分解活性は各種特異的基質及び宿主血液由来成分（ヘモグロビン）を用いて実施した。
- 7) マダニシスタチンのシステインプロテアーゼインヒビター活性は、各種システインプロテアーゼ標品（カテプシン L、カテプシン B、パパイン）とその特異的基質を用いて検討した。

#### C. 研究結果

- 1) フタトゲチマダニより 333 アミノ酸残基・分子量 36.2kDa からなるカテプシン L および 112 アミノ酸残基・分子量 12.3kDa のシスタチンをコードする cDNA を分離した。
- 2) 大腸菌で作製した組換えカテプシン L を用いて各種特異的基質に対する加水分解活性を検討したところ、カテプシン L 特異的蛍光基質（Z-Phe-Arg-MCA）に対する活性が確認された（ $K_m=40.78 \pm 4.307 \mu M$ ）。
- 3) 定量 PCR による解析の結果、マダニカテプシン L およびマダニシスタチン遺伝子は、共に吸血開始後より発現が増強されており、カテプシンは吸血開始 48 時間後、シスタチンは吸血開始 24 時間後において、それぞれ最も高い発現レベルを示した。
- 4) 免疫蛍光抗体法を用いて検討したところ、マダニシスタチンの陽性反応は唾液腺の II 型腺房内に確認された。
- 5) マダニカテプシン L はウシ由来ヘモグロビンに対し、酸性条件下（pH 3.2-5.6）において顕著な加水分解活性を示した。
- 6) 各種システインプロテアーゼ標品を用いた

阻害活性試験の結果、マダニシスタチンはカテプシンL特異的加水分解活性に対し顕著な阻害作用 ( $IC_{50}=273.6 \pm 52.95$  nM) を示したが、カテプシンBに対してはほとんど阻害活性を持たず、パパインに対する阻害活性はカテプシンLに対する作用と比較して低いことが示された ( $IC_{50}=5.3 \pm 0.665$   $\mu$ M)。

#### D. 考察

マダニカテプシンLは中腸における血液消化の主たる過程であるヘモグロビン分解に関与していることが示唆された。また、吸血時に発現増強されるマダニシスタチンは、哺乳類に対して薬理作用を持つ物質を含むとされるII型腺房への局在が示された事から、マダニ-宿主の相互作用に関与する分子であることが考えられた。これらのシステインプロテアーゼおよびシステインプロテアーゼインヒビターは他の媒介節足動物や寄生性線虫類も保持していることが想定され、媒介昆虫を含めベクター制御に貢献できると同時にベクター由来の新規抗寄生虫薬の標的としても有効であると考えられた。

#### E. 結論

本知見はマダニをはじめとした外部寄生性節足動物の生存戦略の根幹である、消化および付着に関与する分子を標的とした新規寄生虫防圧法の開発に有効な知見であると考えられた。また、カテプシンおよびシスタチンは内部寄生線虫や他の媒介性節足動物の消化や寄生戦略にも関与することが考えられ、これら分子を標的とする新規の抗寄生線虫薬、抗マダニ薬及び外部寄生虫薬の開発が期待される。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Yamaji K, Tsuji N, Miyoshi T, Islam MK, Hatta T, Alim MA, Anisuzzaman, Takenaka A, Fujisaki K. (2009). Hemoglobinase activity of a cysteine protease from the ixodid tick *Haemaphysalis longicornis*. *Parasitol Int.* 58, 232-237.

Yamaji K, Tsuji N, Miyoshi T, Islam MK, Hatta T, Alim MA, Anisuzzaman M, Kushibiki S, Fujisaki K. (2009). A salivary cystatin, HISC-1, from the

ixodid tick *Haemaphysalis longicornis* play roles in the blood-feeding processes. *Parasitol Res.* 106, 61-68.

##### 2. 学会発表

山地佳代子、辻尚利、三好猛晴、八田岳士、Alim Abdul、Anisuzzaman、竹中昭雄、藤崎幸蔵。マダニシスタチン3種の酵素阻害性状と局在。第78回日本寄生虫学会大会 P.90.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他  
以上なし

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）

分担課題：日本住血吸虫症の病態発現分子解析

研究分担者 太田伸生

（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科国際環境寄生虫病学分野）

研究協力者 熊谷 貴（同上）

#### 研究要旨

住血吸虫感染による病態を特徴づける宿主体内残存虫卵に対する肉芽腫形成反応の免疫学的機序について日本住血吸虫感染の場合では十分に解明されていない。その解明を目指して BALB/c バックグラウンドの IL-4/13 ダブルノックアウト(DKO)マウスを用いて肉芽腫形成に生ずる変化を追跡検討した。DKO マウスにマンソン住血吸虫を感染させた場合、虫卵肉芽腫は明らかに縮小するが、日本住血吸虫感染の場合は逆に有意な増加を示すことがわかった。そこで生じている変化が何に起因するかを検討した所、マンソン住血吸虫感染で肉芽腫形成の縮小時に見られた IL-17 の発現が、DKO マウスの日本住血吸虫感染では逆に有意な上昇として観察された。以上の観察結果から、Th2 サイトカインが存在しない環境下では虫卵肉芽腫形成を IL-17 が調節しており、その発現調節機構が日本住血吸虫とマンソン住血吸虫感染の場合とでは異なることがわかった。

#### A. 研究目的

住血吸虫に対するほ乳類宿主の免疫反応の発現と調節機構の本態はなお不明であるが、マウスの実験的感染データからはマンソン住血吸虫感染時の応答と日本住血吸虫感染時のそれとは大きな違いも存在することが示されるようになった。住血吸虫が宿主体内に産下する虫卵は毛細血管で塞栓し、宿主免疫システムは肉芽腫性炎症を引き起こす。これが Th2 系細胞による応答であることがマンソン住血吸虫感染実験で明らかにされると、日本住血吸虫についても同様機序によるものであろうと推測されるようになったが、詳細な追跡実験で証明されたとは言えない状況である。

IL-4/13 ダブルノックアウト(DKO)マウスでは Th2 応答がほぼ完全に抑制されてしまうので、Th2 応答が肉芽腫形成を促進することが証明されているマンソン住血吸虫感染でも DKO マウスは虫卵肉芽腫形成が明らかに縮小されてくることが示されている。

今回の我々の疑問は、DKO マウスの日本住血吸虫感染でもマンソン住血吸虫感染と同様に Th2 応答が虫卵肉芽腫形成を促進しているならば同様の効果が観察されるであろうという作業仮説のもとで実証を試みた。ところが、日本住血吸虫感染の DKO マウスでは予想に反して肝臓内に形成される虫卵肉芽腫のサイズが増大する

結果であった。そこで起こっている現象を調べて、日本住血吸虫感染による虫卵肉芽腫形成の誘導機序を再考したいと思う。

## B. 研究方法

1. IL-4/13 DKO マウス：英国 A. McKenzie らが創出した BALB/c バックグラウンドの IL-4/13 ダブルノックアウトマウスを入手して実験に用いた。

2. 住血吸虫感染：山梨株の日本住血吸虫を DKO マウスおよび野生型 BALB/c マウスに感染させ、6 週後に安楽死処理の上、肝門脈還流法により虫体を回収し、さらに肝臓は虫卵肉芽腫を観察するために病理標本として HE 染色をおこなった。

3. サイトカインアッセイ：肝細胞を回収して局所のサイトカインをリアルタイム PCR で測定した。IL-5, IL-6, IL-17, TNF $\alpha$ , CXCL2 等を測定した。

倫理面への配慮：本研究は東京医科歯科大学の動物実験委員会による承認を得て実施した。

## C. 研究結果

1. DKO マウスにおける日本住血吸虫感染に対する病理の変化

日本住血吸虫感染によるマウス肝臓内の虫卵肉芽腫は、DKO マウスでは Th2 応答が遮断されている状況であるにも関わらず、野生型 BALB/c マウスの場合と比較し、肉芽腫サイズが有意に増加した ( $p < 0.05$ )。従来から日本住血吸虫感染では虫卵肉芽腫は好酸球性というよりも好中球の浸潤が見られたが、DKO マウスで見られた虫卵肉芽腫でも HE 染色標本で判断する限りでは好酸球は全く観察されず、一方で好中球の

浸潤は顕著であった。

2. DKO マウスにおけるサイトカイン産生プロフィール

感染 6 週における肝細胞を用いてサイトカイン産生を調べた所、DKO マウスで IL-4 の産生は全く見られないが、IFN $\gamma$ の上昇もみられず、単に Th1/Th2 バランスの変化が起こったという状況ではなかった。一方、虫卵肉芽腫形成に促進的に関与する可能性も示唆されている IL-17 を測定した所、DKO マウスでは有意な産生増加が観察された ( $p < 0.05$ )。しかし、好中球誘導に関係するサイトカインとして TNF $\alpha$ も発現が有意に上昇したが、その他では有意な変化は観察されなかった。

## D. 考察と結論

日本住血吸虫とマンソン住血吸虫はともに intestinal schistosomiasis とされるものであり、主病変も肝臓に見られる点で免疫病因論にも共通性があるものとの推測がなされる。それが正しいのか否かについては、これまで十分な検証はなされてこなかった。

慢性病変の原因となる虫卵肉芽腫形成反応が宿主 Th2 応答による生体応答であることがマンソン住血吸虫感染で証明されて以来、日本住血吸虫でも同様であろうと漠然とした推測がなされてきた。今回用いた IL-4/13 DKO マウスでは Th2 応答がほぼ完全に遮断されるマウスであるが、文献的にマンソン住血吸虫感染で DKO マウスでは虫卵肉芽腫形成が低下することが報告されていた。今回、日本住血吸虫感染 DKO マウスでは全く反対の表現系を示したことは二つの住血吸虫種がそれぞれ異なっ

た病理誘導の機序を働かせていることを示すものであった。

Th2 系応答が直接に IL-17 産生するのかは十分な情報がない。今回の結果ではマンソン住血吸虫感染で Th2 が存在しない結果、IL-17 も低下したのに対して、日本住血吸虫感染では Th2 の非存在下で IL-17 発現が上昇したことになり、Th2 系と Th17 系との相互作用については今後検討を持ち越す状況である。

今回の観察結果は、日本住血吸虫感染時の病態発現に影響する機構の解析の 1 つのアプローチとなるものであり、将来の治療的応用も視野に入れた検討を進めていくことが期待される。

#### E. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 論文発表

Anyan WK, Kumagai T, Shimogawara RF, Seki T, Ohta N et al. Schistosome eggs have a direct role for induction of basophils capable of high level of IL-4 production: Comparative study of single- and bisexual infection of *Schistosoma mansoni* in vivo  
Trop Med Health, *in press*, 2010.

##### 学会発表

熊谷 貴、下河原理江子、関 文典、谷口斉恵、太田伸生 日本住血吸虫シストソミユラ特異遺伝子を標的とした RNAi スクリーニング 題 78 回日本寄生虫学会大会、2009 年 3 月、東京都。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金(国際医学協力研究事業)  
2009(平成 21)年度 (分担) 研究報告書

マラリア および 住血吸虫の寄生適応機構の研究

研究分担者 金澤 保(産業医科大学・免疫学寄生虫学)

研究要旨

マラリア: 前年度は、マクロライド系抗菌薬アジスロマイシン(AZM)がネズミマラリア原虫(*Plasmodium berghei*)の蚊体内ステージにおいて原虫増殖を有意に抑制することを報告した。今回その機序について検討した結果、AZMは赤内型だけでなく蚊体内においてもアピコプラストの増殖を抑制していることを明らかにした。住血吸虫: 前年度は、住血吸虫卵によるマウス脾細胞からの IL-17 産生能低下において、虫卵の viability が重要であることを報告した。今回は T 細胞刺激法やサイトカインの影響について検討した。虫卵投与マウスにおける IL-17 産生能の低下は、*in vivo* で T 細胞に生じている変化であり、培養中に非 T 細胞や他のサイトカインの影響によって生じたものではないことが示唆された。

[研究協力者]

マラリア: 新井明治(香川大)、清水少一

住血吸虫: 長田 良雄

A. 研究目的

A-1 マラリア

我々は集団投与可能なマラリア伝播阻止薬の開発を目指して、一定の安全性が確保されている既存薬剤の中からマラリア伝播阻止効果を有するものを選び出し、より有効性・安全性の高い投与方法を模索するとともに、その作用機序を解明することで、マラリア原虫の蚊体内発育ステージにおける新たな薬剤標的を同定すべく研究を行っている。本年度は、熱帯熱マラリア原虫の赤内型に対する増殖抑制効果が報告されているマクロライド系抗菌薬アジスロマイシン(AZM)について、ネズミマラリア原虫(*Plasmodium berghei*)に対する伝播阻止効果について検討すると共に熱帯熱マラリア原虫赤内型において AZM の薬剤標的と考えられている細胞内小器官アピコプラストの増殖抑制効果を赤内型、蚊体内ステージそれぞれにおいて検討した。

A-2 住血吸虫

微生物や寄生虫の感染によってアレルギーや自己

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

我々は、寄生虫の抗炎症効果のメカニズムを解明し、炎症・アレルギー性疾患の治療法開発に貢献することを目的として研究を行っている。昨年度までに、住血吸虫感染が実験的関節炎の抑制作用をもつこと、その際に脾細胞の炎症性サイトカイン(IL-17, TNF $\alpha$ )産生ポテンシャルの低下を伴うこと、IL-17 産生能低下において、投与する虫卵の viability が重要であることを報告してきた。本年度は虫卵による IL-17 産生能の修飾が、マウス体内あるいは培養系のどのレベルで起きている変化であるかを明らかにするべく、基礎的な検討を行った。

B. 研究方法

B-1 マラリア

同レベルの生殖母体を有する *P. berghei* 感染 BALB/c マウスに AZM 400 mg/kg、あるいは対照としてカルボキシメチルセルロース(CMC)を経口投与し、24時間後にハマダラカ *Anopheles stephensi*に吸血さ

せ、生殖母体を蚊に取り込ませた。(昨年度は投与 3 時間後の吸血での結果を報告したが、本年度は、より安定している「24 時間後吸血」での実験結果を報告する。) 蚊体内での原虫発育の評価を、雄性生殖体形成数(吸血時、*in vitro*)、中腸内オーキネート数(1 日後)、中腸壁オーシスト数(10 日後)、中腸および唾液腺のスプロゾイト数(20 日後)の計数によって行った。また、赤内型原虫(薬剤投与 24、72 時間後)および蚊体内ステージ原虫(吸血 5、10、15 日後)から DNA を採取し、細胞内小器官(アピコプラスト、ミトコンドリア) DNA の核 DNA に対する量比を、それぞれに特異的な遺伝子を標的としたリアルタイム PCR を用いて測定し薬剤非投与群と比較することで、細胞内小器官の増殖への AZM の影響を評価した。

#### B-2 住血吸虫

C57BL/6 マウスにマンソン住血吸虫卵を腹腔内投与して 1 週後に脾細胞を採り、ConA または抗 CD3 抗体で刺激培養を行った。48 時間後に培養上清を採取し、ELISA にてサイトカイン量を測定した。培養の際には T 細胞分画と非 T 細胞分画を分け、虫卵投与群と非投与群の細胞を混合培養することにより、培養時間内における非 T 細胞の影響を検討した。また本培養系に IL-17 抑制性サイトカインに対する抗体を添加して、IL-17 産生への影響を検討した。

#### [倫理面への配慮]

実験動物処置の際は必ず麻酔を使用した。産業医科大学動物実験及び飼育倫理審査において承認を受けている(承認番号:AE08-005、AE06-003)。なお本研究では人体材料は用いていない。

### C. 研究結果

#### C-1 マラリア

AZM 投与マウスを吸血した蚊の中腸で形成されたオーキネート数、オーシスト数、中腸・唾液腺スプロゾイト数はいずれも対照群に比較して抑制されていた。また、スプロゾイト産生期においても、赤内型期と同様に AZM のアピコプラストの増殖抑制効果を認めた。ミトコンドリアに対しては、両時期とも AZM による抑制効果は認められなかった。

#### C-2 住血吸虫

脾細胞の ConA 刺激では虫卵投与による顕著な IL-17 産生の低下が観察されたが、抗 CD3 刺激ではほとんど低下が観察されなかった。一方、IFN $\gamma$ 、IL-4、IL-10 産生についてはどちらの刺激の場合も同様の変化が観察された。T 細胞と非 T 細胞の混合培養では、非 T 細胞の由来(虫卵投与群、虫卵非投与群)に関わらず、虫卵投与群の T 細胞が含まれている場合に、サイトカインの変化が観察された。IL-17 産生の低下は、培養系に IFN $\gamma$ ・IL-4・IL-10 あるいは IL-27 に対する抗体を添加しても回復しなかった。

### D. 考察

#### D-1 マラリア

AZM はオーシスト数を低下させ、かつオーシストにおけるスプロゾイト形成を抑制する可能性が示唆された。アピコプラストは赤内型、蚊ステージに共通する AZM の標的である可能性があると考えられた。

#### D-2 住血吸虫

虫卵投与による ConA 刺激時 IL-17 産生能低下は、脾細胞採取時に既に T 細胞に生じている変化であり、培養中に非 T 細胞や IL-17 抑制性サイトカインの影響によって生じたものではないことが示唆された。また IL-17 産生能低下は抗 CD3 刺激の場合はほとんど観察されなかったことから、IFN $\gamma$  産生能低下などとは、異なるレベルで起きている現象と考えられた。

### E. 結論

#### E-1 マラリア

AZM はハマダラカ体内でアピコプラスト増殖抑制を通じてマラリア原虫のスプロゾイト形成を抑制している可能性が示された。今後 AZM の投与条件等を最適化し、より確実な伝播阻止効果を示すことができれば、赤内型原虫や肝細胞内型原虫に対する増殖阻害効果とあわせて、AZM はマラリア流行抑制の新たな手段となり得ると考えられる。

#### E-2 住血吸虫

住血吸虫卵投与により、*in vivo* で T 細胞のレベルにおいて IL-17 産生能の変化が起きていることが判明した。今後は、炎症における本現象の意義と、その分子メカニズムを明らかにしていく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

[総説]

Osada Y, Kanazawa T. Parasitic helminths: New weapons against immunological disorders. *J Biomed. Biotechnol.* Special Issue “Immunology and Cell Biology of Parasitic Diseases” (In press)

2. 学会発表

清水少一、新井明治、長田良雄、金澤 保  
クラリスロマイシンの *Plasmodium berghei* に対する伝播  
阻止効果の検討  
第 78 回 日本寄生虫学会大会  
東京(2009 年 3 月)

長田良雄、井上嘉乃、米本知世、金澤保  
住血吸虫卵の炎症性 Th サイトカイン産生に与える影  
響  
第 78 回 日本寄生虫学会大会  
東京(2009 年 3 月)

清水少一、新井明治、長田良雄、金澤 保  
マラリア対策の新戦略 - クラリスロマイシンとアジスロ  
マイシンのマラリア伝播阻止効果と新規薬剤標的 -  
第 16 回マクロライド新作用研究会  
東京(2009 年 7 月)

清水少一、新井明治、長田良雄、金澤 保  
アジスロマイシンによる *P. berghei* オーシストのアピコ  
プラスト複製抑制と伝播阻止効果  
第 8 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム  
大阪(2009 年 10 月)

清水少一、新井明治、長田良雄、金澤 保  
アジスロマイシンのマラリア伝播阻止効果と薬剤標的  
第 50 回日本熱帯医学会大会

宜野湾(2009 年 10 月)

清水少一、新井明治、長田良雄、金澤 保  
アジスロマイシンのマラリア伝播阻止効果と媒介蚊ス  
テージにおける薬剤標的  
第 62 回 日本寄生虫学会南日本支部大会・第 59 回  
日本衛生動物学会南日本支部大会・合同大会  
福岡(2009 年 11 月)

長田良雄、金澤 保  
寄生蠕虫研究の新しい方向性 - 治療薬としての蠕  
虫の可能性 -  
第 62 回 日本寄生虫学会南日本支部大会・第 59 回  
日本衛生動物学会南日本支部大会・合同大会  
シンポジウム  
福岡(2009 年 11 月)

長田良雄  
住血吸虫の抗炎症および Th17 応答抑制作用の解析  
第 3 回蠕虫研究会  
宮崎(2009 年 11 月)

長田良雄、金澤 保  
マウスにおける住血吸虫の抗関節炎・免疫修飾効果  
の解析  
第 39 回 日本免疫学会総会  
大阪(2009 年 12 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし



**研究要旨**

**目的：**本研究では、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た。

**研究方法：**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とコントロール世帯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年間モニタリングして評価した。

**結果とまとめ：**散布家屋内において、サシチョウバエの総数は変化しなかったが、吸血しているサシチョウバエの割合の減少がみられた。介入世帯とコントロール世帯において、抗体陽性化率では統計学的に有意な差はなかった。

ニームオイルの有効成分については近年、有機栽培使用に奨励されたこともあり、殺虫効果についてのエビデンスが蓄積されてきている。本研究で、サシチョウバエの総数はあまり変動せず、吸血している数が減少したことは、低濃度での散布の特性を示しているのかもしれない。さらに有効成分純度の高いニームオイルを使用することにより、予防効果を向上することができると思われる。農薬問題のない天然植物素材のニームオイルが、リーシュマニア症制圧に役立つことが示せれば、世界のリーシュマニア症患者を減らすことができるばかりでなく、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。

**A. 研究目的**

本研究の分担研究者である我妻は、ニームオイルの散布がサシチョウバエの減少に効果があることを予備実験で確かめ、その成果を日本熱帯医学会にて2005年に発表している。リーシュマニア症は世界保健機構（WHO）の薦める重要感染症疾患に入っているにもかかわらず、人体投与薬物治療薬は非常に副作用の高い重金属アンチモニ製剤の注射薬で20日から60日の連続投与が必要である。小児や妊婦での使用が難しく、治療成績もばらばらで、治療後致死率はバングラデシュでは10%以上もあることを報告した(Bern et al, 2005)。本研究では、農薬問題のない天然植物素材である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た。

**B. 研究方法**

ニームオイル中の有効成分であるアザルディクチンの含有度を正確に測り、その濃度と散布回数の標準化を図り、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、その標準化家屋内散布介入をする家とそうでない家とをランダムに割り当て（各群約750世帯）、2年間の観察評価をして、媒介昆虫が家屋内で減少したか、また、さらには、患者発生が減少したかを評価した。2年間の介入後、最終評価のための血液検査とCDC ライトトラップによるサシチョウバエの収集を行った。並行して、ニームオイルの人々への受け入れと使用に関して、社会調査（formative study）を実施した。

（倫理面への配慮）

国際下痢症研究センター（ICDDR,B）の倫理委員会に研究プロトコルを提出し、承認を受けた。研究参加者にはインフォームド・コンセントを行い、同意書を取っている。

**C. 研究結果**

コミュニティサーベイランス人口（1700世帯；人口8,500人）のうち、3歳以上を対象にニーム介入1年後の疾病発生血液検査（セロサーベイ）を実施し、データ解析を行った。散布家屋においては罹患率の減少傾向（散布家屋＝2・

0%；非散布家屋＝2.7%)がみられた。また、介入2年後の最終評価では、罹患率に有意な差を認めなかった。しかし、介入群において吸血しているサシチョウバエの減少に有意な差がみられた(Wagatsuma Y, 2009)。また、ニームオイルの人々への受け入れ度に関しては、比較的高く、現行の価格であっても、51%の住民が購入使用を希望していた(Fukushige M, 2009)。

#### D. 考察

サシチョウバエの総数はあまり変動せず、吸血している数が減少したことは、この濃度散布におけるニームオイルの効果の特性を示しているかもしれない。散布濃度が低すぎた可能性があり、さらに有効成分純度の高いニームオイルを使用することにより、予防効果を向上することができるかもしれない。

環境残留有害物質の検出技術が向上するにつれ、農薬問題はその加速度を増して難しくなっている。地球環境を考慮し、将来にわたって持続性ある安全な衛生動物制御が求められている。農薬問題のない天然素材のニームオイルが、もしリーシュマニア症制圧に役立つことが示せれば、世界中のリーシュマニア症患者を減らすことができるばかりでなく、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も天然素材の応用が可能である道が開けるかもしれない。

#### E. 結論

ニーム介入群において、吸血しているサシ

ョウバエの割合の低下がみられた。罹患率まで影響を与えるためには、さらに有効成分純度の高いパージンオイルを使用して、介入試験を実施する必要がある。また、リペラントなど予防ツールの多様化を図ってゆくことにより、人々の受け入れ効果を見る必要がある。

#### F. 健康危険情報

該当せず。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Wagatsuma Y, Alam MS, Fukushige M, Islam MZ, Itoh M, Mondal D, Haque R. **Neem extract as a control tool for vector-borne diseases: an example of visceral leishmaniasis in Bangladesh.** *Biopestic. Int.* 2009;5(2):134-140.

Fukushige M, Alam MS, Haque R, Wagatsuma Y. **Acceptance for neem oil as a visceral leishmaniasis vector control.** *Biopestic. Int.* 2009;5(2):141-147.

##### 2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)  
該当せず。

厚生労働科学研究費補助金(国際医学協力研究事業)

分担研究報告書

マラリア原虫の宿主細胞認識と侵入機序の解析

研究分担者 鳥居本美 愛媛大学大学院医学系研究科教授

研究要旨： マラリア原虫メロゾイトの赤血球結合分子 EBL (EBL : Erythrocyte Binding-Like) は赤血球侵入に必須とされる分子である。ネズミマラリア原虫 (*Plasmodium yoelii*) の弱毒株の Py17XNL と致死株の Py17XL における EBL 分子内のアミノ酸置換による EBL 分子の局在の変化および病原性の変化について検討した。Py17XNL 株原虫 EBL の領域 6 に存在する 8 個のシステインのうち 4 番目、5 番目、7 番目のものを、それぞれアラニンに置換した遺伝子組換え原虫を作成して、EBL の局在を間接蛍光抗体法で観察したところ、全ての組換え原虫において EBL の局在が本来のマイクロネームからデンスグラニュール局在パターンへと変化していた。これらの遺伝子組換え原虫のマウスに対する感染動態をみると、全ての組換え原虫において感染赤血球率の有意な上昇が認められた。また、感染赤血球の嗜好性をみると 17XNL の標的赤血球である網状赤血球のみならず成熟赤血球への侵入も認められた。以上の結果から、第 6 領域が PyEBL 分子の細胞内輸送に重要であること、また、第 6 領域のアミノ酸変異がマラリア原虫の赤血球侵入動態に影響し、さらには病原性の変化をもたらすことが明らかになった。

A. 研究目的

マラリア原虫メロゾイトの赤血球結合分子 (EBL : Erythrocyte Binding-Like) はメロゾイトの赤血球侵入に重要な機能を果たすことから、赤血球ステージ原虫に対するワクチン候補抗原として注目されている。我々は EBL 分子を標的とするワクチン開発のモデルとして、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* の EBL (PyEBL) の解析を行っている。感染後の急激な原虫感染率の上昇により致死となる強毒株 (17XL) と致死的でない弱毒株 (17XNL) の PyEBL 分子の塩基配列を解析し、その結果から予想されるアミノ酸配列を比較したところ、オープンリーディングフレーム内での相違は、C 末端部のシステイン (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のみであった。この Cys の変異に着目し、Py17XL 株と Py17XNL 株におけるアミノ酸置換と分子の局在の差異および病原性の差違との関連性を検討した。免疫電子顕微鏡法を用いて PyEBL の詳細な局在をみると、17XNL 株では PyEBL は原虫先端部のマイクロネームに局在するのに対し、17XL 株では先端部より後方に位置するデンスグラニュールに局在することが判明した。そこで、PyEBL の第 6 領域のアミノ酸を置換した遺伝子改変原虫を作成して検討した結果、第 6 領域が PyEBL 分子の細胞内輸送に重要であること、第 6 領域のアミノ酸変異がマラリア原虫の赤血球侵入動態に影響し、さらには病原性の変化をもたらすことを明らかにすることが

できた。本年度は、Py17XL と Py17XNL 株における EBL 分子の局在の差、および病原性の差が領域 6 の他のアミノ酸を置換しても起こりうるか否かについて、特に領域 6 内のシステインに着目して検討を行った。

## B. 研究方法および結果

遺伝子改変によって 17XNL 株の PyEBL の 726 番目のアミノ酸（第 6 領域の 2 番目の Cys）を Arg に置換した原虫 17XNL (Cys-Arg) を作成して、間接蛍光抗体法によって観察したところ、原虫における EBL の局在が Py17XNL 株特有のマイクロネーム局在パターンから Py17XL 株特有のデンスグラニュール局在パターンに変化した。そこで、17XNL 株の PyEBL の同じ 726 番目のアミノ酸（を Ara に置換した原虫を作製して観察すると、Arg 置換と同様のデンスグラニュール局在パターンへの変化が認められた。PyEBL の 726 番目のアミノ酸をそれぞれ Cys から Arg と Ara に置換した原虫の間で特に EBL の局在に差が見出されなかったため、以下の研究では領域 6 内のシステインをそれぞれ Ara へ置換して、アミノ酸置換による局在に及ぼす影響を検討した。また、アミノ酸を置換せず PyEBL の C 末端に緑色蛍光タンパク質（GFP）を付加するコンストラクトを作成して、組換え原虫における EBL の局在を観察したところ、GFP による蛍光の局在はマイクロネーム局在パターンを示した。これによって GFP 付加が EBL の局在に影響しないことを確認した。そこで、PyEBL の C 末端に GFP を付加する組換え用コンストラクトに、Stratagene 社の

QuikChange® Site- Directed Mutagenesis Kits を用いて目的の部位の Cys を置換するための変異を挿入した。このコンストラクトを Xho I で切断して直鎖化し、Amara 社の Nucleofector II で *P. yoelii* 17XNL 株にトランスフェクションした。ピリメサミンで組換え原虫を選択し、GFP の蛍光と、抗 EBL 抗体による間接蛍光抗体法で EBL の局在を確認した。

Withers-Martinezらは熱帯熱マラリア原虫の EBL のひとつ PfEBA-175 の構造解析によって、領域 6 で保存されている 8 個のシステインの 1 番目と 5 番目、2 番目と 4 番目、3 番目と 8 番目、6 番目と 7 番目が S-S 結合によって架橋されることを予測している。そこで、Py17XNL 株原虫 EBL の領域 6 内 4 番目の Cys、領域 6 内 5 番目の Cys、領域 6 内 7 番目の Cys を、それぞれ Ara に置換した組換え原虫を作成して間接蛍光抗体法で EBL の細胞内局在を観察したところ、これら全ての組換え原虫において EBL の局在は本来のマイクロネーム局在からデンスグラニュール局在パターンへと変化した。以上の結果から、領域 6 の構造が PyEBL の細胞内輸送に重要であることが明らかになった。

次いで、以上の遺伝子組換え原虫のマウスに対する感染動態を観察したところ、全ての組換え原虫において非組換え原虫である Py17XNL に比較して、有意に感染赤血球率が上昇した。また、感染赤血球の嗜好性をみると 17XNL の標的赤血球である網状赤血球のみならず成熟赤血球へも侵入しており、その結果として赤血球感染率が上昇することが

示唆された。この結果は、EBL分子の第6領域のアミノ酸置換が、マラリア原虫の赤血球への侵入嗜好性に変化を及ぼし、その結果として病原性にも影響することを示している。

## E. 結論

弱毒株の Py17XNL と致死株の Py17XL で PyEBL 分子の C 末端部の Cys に富む第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に着目して検討を行った。Py17XNL 株原虫 EBL の領域6に存在する8個のシステインのうち、4番目の Cys、5番目の Cys、7番目の Cys を、それぞれ Ara に置換した組換え原虫を作成して間接蛍光抗体法で観察したところ、これら全ての組換え原虫において EBL の局在はマイクロネーム局在パターンからデンスグラニール局在パターンへと変化した。また、これらの遺伝子組換え原虫のマウスに対する感染動態を観察したところ、全ての組換え原虫において感染赤血球率の有意な上昇が認められた。また、感染赤血球の嗜好性をみると 17XNL の標的赤血球である網状赤血球のみならず成熟赤血球へも侵入が認められた。以上の結果から、第6領域が PyEBL 分子の細胞内輸送に重要であること、第6領域のアミノ酸変異がマラリア原虫の赤血球侵入動態に影響し、さらには病原性の変化をもたらすことが明らかになった。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A,

Tachibana M, Otsuki H, Gao Q, Tsuboi T, Torii M. Rhoptry neck protein RON2 forms a complex with microneme protein AMA1 in *Plasmodium falciparum* merozoites.

Parasitol Int, 58(1):29-35, 2009

2) Iriko H, Jin L, Kaneko O, Takeo S, Han ET, Tachibana M, Otsuki H, Torii M, Tsuboi T. A small-scale systematic analysis of alternative splicing in *Plasmodium falciparum*.

Parasitol Int 58(2):196-199, 2009

3) Otsuki H, Kaneko O, Thongkukiatkul A, Tachibana M, Iriko H, Takeo S, Tsuboi T, Torii M. Single amino acid substitution in *Plasmodium yoelii* erythrocyte ligand determines its localization and controls parasite virulence. Proc Natl Acad Sci USA. 2009, 106:7167-7172

4) Arakawa T, Tachibana M, Miyata T, Harakuni T, Kohama H, Matsumoto Y, Tsuji N, Hisaeda H, Stowers A, Torii M, Tsuboi T. Malaria ookinete surface protein-based vaccination via the intranasal route completely blocks parasite transmission in both passive and active vaccination regimens in a rodent model of malaria infection.

Infect Immun, 77(12):5496-5500, 2009

### 2. 学会発表

1) Otsuki H, Kaneko O, Thongkukiatkul A,

- Tachibana M, Iriko H, Takeo S, Tsuboi T, Torii M. Erythrocyte-binding-like molecule and virulence of *Plasmodium yoelii*. Forty-third annual U.S. - Japan Parasitic Diseases Panel Meeting, Tokyo, Japan, January 7-8, 2009.
- 2) Takeo S, Sakamoto H, Hirabayashi N, Torii M, Tsuboi T. Novel antigens at *Plasmodium falciparum* schizont-merozoite stages as potential vaccine candidates. Forty-third annual US-Japan Parasitic Diseases Panel Meeting, Tokyo, Japan, January 7-8, 2009.
- 3) Kawazu S, Yano K, Otsuki H, Arai M, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Igarashi I, Kano S. Disruption of 2-Cys peroxiredoxin TPx-1 gene in *Plasmodium berghei* hinders the sporozoite development. Forty-third annual U.S. - Japan Parasitic Diseases Panel Meeting, Tokyo, Japan, January 7-8, 2009.
- 4) Tsuboi T, Takeo S, Otsuki H, Tachibana M, Sattabongkot J, Torii M. Wheat germ cell-free protein synthesis system: a breakthrough for the post-genome malaria vaccine candidate discovery. Vivax malaria research III: 2009 and beyond, Gamboa, Panama, May 24-28, 2009.
- 5) Tachibana M, Iriko H, Muratova O, Song G, Wu Y, Sattabongkot J, Takeo S, Otsuki H, Torii M, Tsuboi T. Immunization with N-terminal region of a gametocyte protein Pfs230 successfully induce transmission - blocking antibodies against *Plasmodium falciparum*. ASTMH 58th annual meeting, Washington DC, USA, November 18-22, 2009.
- 6) Takeo S, Sakamoto H, Kaneko T, Tachibana M, Miura K, Varma S, Sattabongkot J, Torii M, Tsuboi T. Identification of novel blood-stage vaccine candidates against *Plasmodium falciparum* by high-throughput immunoscreening. ASTMH 58th annual meeting, Washington DC, USA, November 18-22, 2009.
- 8) 宮田 健、小濱秀泰、原國哲也、坪井敬文、Sattabongkot Jetsumon、橘真由美、鳥居本美、松崎吾朗、新川 武。マラリアワクチン開発のための三部構成五価免疫賦活複合体。第 78 回日本寄生虫学会大会、東京都、3/27-28、2009。
- 9) Sungkapong Tippawan, Culleton Richard, 矢幡一英、坪井敬文、鳥居本美、Sattabongkot Jetsumon、金子 修、Chotivanch Kesinee. Characterization of *Plasmodium vivax* subtelomeric transmembrane protein (PvSTP), a homolog of *P. falciparum* SURFIN. 第 78 回日本寄生虫学会大会、東京都、3/27-28、2009。
- 10) 横内ゆき、大槻 均、橘 真由美、伊与久菜摘、韓 銀澤、竹尾 暁、坪井敬文、鳥居本美。LDH 活性測定によるネズミマラリア原虫感染率の迅速簡便測定法の確立。第 78 回日本寄生虫学会大会、東京

都、3/27-28、2009.

11) 坂本寛和、竹尾 暁、金子隆昌、谷上弘恵、松岡和弘、橘真由美、澤崎達也、Sattabongkot Jetsumon、鳥居本美、坪井敬文. 高速免疫スクリーニングによる新規熱帯熱マラリア赤血球期ワクチン候補抗原の探索. 第78回日本寄生虫学会大会、東京都、3/27-28、2009.

12) 橘真由美、Wu Yimin、入子英幸、大槻 均、Sattabongkot Jetsumon、竹尾 暁、鳥居本美、坪井敬文. コムギ無細胞系を用いた抗体誘導可能な熱帯熱マラリア伝搬阻止ワクチン候補抗原 Pfs230 の作製. 第78回日本寄生虫学会大会、東京都、3/27-28、2009.

16) Kangwanransan Niwat、Jenwithisuk Rachaneeporn、橘真由美、坪井敬文、鳥居本美. A novel ookinete surface protein with high potential of transmission-blocking vaccine candidate. 第78回日本寄生虫学会大会、東京都、3/27-28、2009.

17) 小濱秀泰、宮田 健、原國哲也、坪井敬文、Sattabongkot Jetsumon、橘真由美、鳥居本美、松崎吾朗、新川 武. 酵母 *Pichia pastoris* 発現三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン Pvs25 の感染防御効果. 第78回日本寄生虫学会大会、東京都、3/27-28、2009.

18) 大槻 均、石野智子、金子 修、橘 真由美、坪井敬文、鳥居本美. ネズミマラリア原虫赤血球結合タンパク (EBL) の細胞内輸送ドメインの機能解析  
第8回分子寄生虫・マラリア研究フォーラ

ム、豊中市、10/9-10、2009。

19) 大槻 均、金子 修、Amporn Thongkukiatkul、橘 真由美、入子 英幸、竹尾 暁、坪井 敬文、鳥居 本美.

マラリア原虫の赤血球侵入に必須な分子 (EBL) の細胞内移行と病原性を決定する部位の同定. 第32回日本分子生物学会年会、横浜、12/9-12、2009.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきものはない

## 寄生虫感染宿主由来好塩基球のTh2/IgE誘導・増強効果の解析

中西憲司 兵庫医科大学 教授

### 研究要旨

細胞内寄生原虫が感染すると、これを排除するため Th1 型の免疫応答が誘導される。一方、蠕虫が感染すると、Th2 型の免疫応答が誘導される。Th1 細胞の誘導は樹状細胞の作用によるが、Th2 細胞の誘導にどの自然免疫系細胞がどの様に関与するのか不明であった。そこで、本研究では Th2 細胞を誘導する自然免疫系細胞の同定に努めた。その結果、好塩基球が、Th2 細胞の誘導および／または増加に寄与する抗原提示細胞であることを明らかにした。

### A. 研究目的

好塩基球は全顆粒白血球の 1% 弱を占める少数派細胞である。好中球あるいは好酸球と異なり、好塩基球は細菌あるいは寄生虫が感染しても末梢血中の細胞数が増加することはない。しかし、寄生虫が感染した動物の肝臓や脾臓では、好塩基球の数が著明に増加するとともに、Th2 細胞が誘導される。好塩基球は、肥満細胞とともに、IgE 媒介性のアレルギー性炎症のエフェクター細胞として重要である。しかし、両者の特筆すべき違いは、肥満細胞が組織に固着するのに対し、好塩基球は末梢血中を巡回することである。本研究で、好塩基球の Th2 細胞の誘導機能を解明することを目的に研究した。

### B. 研究方法

好塩基球の濃縮：  
正常マウスあるいは、*Strongyloides venezuelensis* を感染させたマウスの脾臓から、T 細胞と B 細胞を除去するこ

とで、好塩基球を濃縮する。次に、これらの中から  $Fc\epsilon R1^+cKit^-$  細胞を選別濃縮することで好塩基球を得る。

1) *in vitro* における Th2 細胞の誘導：ナイーブ  $CD4^+T$  細胞を Th2 細胞に分化させるには、抗原刺激と IL-4 刺激の両方が必要である。そこで、初めに好塩基球が MHC class II を細胞表面に発現することを FACS で、更に IL-4 を産生することを ELISA で検討する。次に、好塩基球が *in vitro* で Th2 細胞を誘導するか検討する。OVA 特異的ナイーブ  $CD4^+T$  細胞を、抗原提示細胞と抗原 (OVA 蛋白、OVA ペプチド、あるいは DNP-OVA/抗 DNP-IgE 複合体) で刺激する際、IL-4 非存在下 (中立培養条件) あるいは存在下 (Th2 細胞誘導条件) で培養し、Th2 細胞が誘導されるか検討する。

2) *in vivo* における Th2 細胞の誘導：最後に、微量の DNP-OVA/抗 DNP-IgE 複合体をナイーブなマウスに投与することで、マウスが有する内因性の好塩基球の作用で Th2 細胞が選択的に誘導されるか検討する。



### (倫理面の配慮)

動物実験は、関係法令を遵守し、「兵庫医科大学動物委員会」、「兵庫医科大学遺伝子組み換え委員会」の承認・許可された実験を行なっている。

### C. 研究結果

非感染マウスの脾臓から得た好塩基球は、*in vitro* で IL-4 を産生するが、*S. venezuelensis* を感染させたマウスの脾臓から得た好塩基球は、正常マウスの脾臓由来の好塩基球に比して、約 10 倍以上の IL-4 を産生する能力を有していた。次に、両好塩基球の Th2 細胞誘導能を比較検討したところ、両好塩基球とも *in vitro* では同程度の Th2 細胞誘導能を示した。そこで、これらの好塩基球がどのような機序で Th2 細胞を誘導するのかを検討した。その結果、好塩基球が *in vitro* で抗原を取り込んで断片化し表面に提示するとともに、IL-4 を産生することが明らかとなった。更に、好塩基球由来の IL-4 存在下で好塩基球の表面に提示された抗原ペプチド/MHC class II 分子複合体で刺激されたナイーブ T 細胞が Th2 細胞に分化することが明らかとなった。従って、好塩基球が Th2 細胞を選択的に誘導する抗原提示細胞であることが明らかとなった。また更に、好塩基球を IL-3 存在下で DNP-OVA と培養すると OVA を取り込むこと、更に DNP-OVA /anti-DNP IgE mAb (IgE 複合体) と培養すると、OVA の取り込み効率が亢進することが明らかとなった。最後に、DNP-OVA /anti-DNP IgE mAb を正常マウスに投与すると、脾臓内で OVA 特異的 Th2 細胞が誘導されること、そして、その誘導には、まず、好塩基球が DNP-OVA /anti-DNP IgE mAb 複合体を取り込み、OVA 特異的 Th2 細胞を誘導することが必須であることが明らかと

なった。

### D. 考察

今回の研究で、好塩基球が Th2/IgE 応答を誘導することが明らかとなったので、実際に、好塩基球が寄生虫感染の制御に、直接関与することを明らかにしたい。

### E. 結論

好塩基球が *in vitro* 並びに *in vivo* で抗原を取り込み、MHC class II に抗原ペプチドを結合すること、CD80/86 を発現すること、更に IL-4 を産生することで、Th2 細胞を *in vitro/in vivo* で選択的に誘導することが明らかとなった。また更に、抗原/IgE 複合体が生体内で形成されると、これを効率的に取り込み、Th2 応答を更に増強することも明らかとなった。

### F. 健康危険情報

該当せず。

## G. 研究発表

### ■ 論文発表 ■

[著書]

中西憲司, 山本一彦 編著. アレルギー疾患の免疫機構. 実験医学 (増刊) 東京:羊土社, 2009

[原著]

Imamura M, Tsutsui H, Yasuda K, Uchiyama R, Yumikura-Futatsugi S, Mitani K, Hayashi S, Akira S, Taniguchi S, Van Rooijen N, Tschopp J, Yamamoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Contribution of TIR domain-containing adapter inducing IFN-beta-mediated IL-18 release to LPS-induced liver injury in mice. *J Hepatol*; 51:333-341, 2009

Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, Nakanishi K. Basophils contribute to TH2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4<sup>+</sup> T cells. *Nat Immunol*; 10:706-712, 2009

Harada M, Obara K, Hirota T, Yoshimoto T, Hitomi Y, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Fukutomi Y, Nakanishi K, Nakamura Y, Tamari M. A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med*; 180:1048-1055, 2009

[総説]

中西憲司. 新しいアレルギーの概念. アレルギー疾患の免疫機構. 実験医学 (増刊号) 27:12-17 (3208-3213), 2009.

松井聖, 佐野統, 中西憲司. IL-18. 炎症と免疫 17:75-82, 2009.

善本知広, 中西憲司. 腸管寄生虫感染と宿主応答. 感染現象. 蛋白質・核酸・酵素 (増刊号) 54:1066-1072. 2009.

安田好文, 善本知広, 中西憲司. 寄生虫感染時のサイトカイン動態. 感染症. 225-231, 実験医学 (増刊号) 27:225-231 (1665-1671), 2009.

安田好文, 中西憲司. アレルギーとアジュバント. アレルギー疾患の免疫機構. 実験医学 (増刊号) 27:94-100 (3290-3296), 2009

### ■ 学会発表 ■

#### 国際学会

Nakanishi K. NKT IFN- $\gamma$  production in response to cecal cauterization induces intestinal adhesion formation by reciprocal regulation of plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1) and tissue-type plasminogen activator (tPA). The 5th International Symposium on CD1/NKT Cells 2009. 3 Kamakura

Nakanishi K. Therapeutic Approach to Th1-Type Bronchial Asthma in Transiently Humanized Mice by Using Human Anti-Human IL-18 Antibody. (Symposium) The 9th World Congress on Inflammation 2009. 7 Tokyo

Nakanishi K. Parasitology. (Guest Speech) The 9th Awaji international forum on infection and immunity 2009. 9 Awaji

国内学会

中西憲司. アレルギー増悪機構の基礎からの解析.(特別講演) 第21回日本アレルギー学会春季臨床大会 2009.6 岐阜

善本知広, 中西憲司. スーパーTh1細胞とアレルギー.(シンポジウム) 第21回アレルギー学会春期臨床学術大会 2009.6 岐阜

Yoshimoto T, Yasuda K, Nakanishi K. Contribution of basophils to Th2/IgE response *in vivo* by production of IL-4 and presentation of MHC class II/peptide complex to CD4<sup>+</sup> T cells. The first Immune Regulation: Present and Future 2009.5 Osaka

Yoshimoto T, Kosaka H, Fujimoto J, Nakanishi K. IFN- $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. 第74回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2009.7 京都

Yoshimoto T, Kosaka H, Fujimoto J, Nakanishi K. IFN- $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. (Workshop) The 9th World Congress on Inflammation 2009.7 Tokyo

Yoshimoto T, Nakanishi K. Basophils contribute to Th2-IgE responses *in vivo* as antigen-presenting cells.(Symposium) The 39<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology 2009.12 Osaka

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第78回日本寄生虫学会大会 2009.3 東京

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第56回日本実験動物学会総会 2009.5 埼玉

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi N. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第74回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2009.6 京都

Yasuda K, Kondo K, Yoshimoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adoptive immune system. The 9<sup>th</sup> World Congress on Inflammation. 2009.7 Tokyo

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. The 9<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity. 2009.9 Hyogo.

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第65回日本寄生虫学会西日本支部大会. 2009.11 大阪

松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 村松正道, 本庶佑, 善本知広, 中西憲司. ヴェネズエラ糞線虫の排除における抗

原抗体複合体の必要性. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 2009.12 大阪

田中英久, 善本知広, 安田好文, 藤盛好啓, 中西憲司. ヒト好塩基球における HLA-DR 発現の検討. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 2009.12 大阪

■特許■

善本知広, 中西憲司 Th2細胞誘導用組成物およびTh2型疾患の治療組成物, ならびにこれらの利用. 出願

日:2009.10.26 国際出願番号:  
PCT/JP2009/005625