

あると聞く。

隣国の中国では、浙江医学科学院の銭らがフロースルー免疫測定法に基づくキットをウエステルマン肺吸虫の抗原を用いて作製し、これをウエステルマン肺吸虫症の診断に供している（浙江省ではウエステルマン肺吸虫のみが人体寄生種として分布する）。昨年度は、宮崎肺吸虫の抗原を使用したキットを共同研究者の銭に作製依頼し、ウエステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫の抗原を各々使用したキットの反応性について検討した。そして、原因種と同一種の抗原を診断に使用することが、正しい診断結果を得るために必要との結論を得た。宮崎肺吸虫症患者を認める我が国では、宮崎肺吸虫抗原を用いた診断キットを常備する必要があるということになる。そこで今年度は、宮崎肺吸虫抗原を用いたキットを、免疫クロマトグラフィー法に基づいて我々で作製した。これと同様の手法で作製したウエステルマン肺吸虫抗原のキットと比較しながら、各々の診断能力を評価した。

B. 研究方法

1) 抗原の調整と新型キットの作製

抗原には肺吸虫症の原因種の鑑別に有用とされるES抗原を選んだ。抗原の調整のために、複数のネコ（肺吸虫の好適終宿主）にウエステルマン肺吸虫および宮崎肺吸虫のメタセルカリアを別々に感染させ、成虫が肺に定着したことを糞便内虫卵検査で確認した後に、感染動物を安楽殺し、成虫を回収した。回収虫体は滅菌生食液で洗浄後、液体培地RPMI1640を満たしたシャーレの中で数時間培養し（37℃）、培養液を回収した。この培養液をタンパク濃度が至適となるように限外濾過膜で濃縮し、ES抗原として新型キットの作製に使用した。

2) 供試血清

感染研・寄生動物部において依頼検査により診断を実施した検体で、患者由来の寄生虫材料

（虫体・虫卵）を用いた形態同定・分子同定により原因虫種を確定した以下の検体を用いて、キットの診断能力を評価した。各検体の原因肺吸虫に関する種同定の根拠は、以下のとおりである。

A. ウエステルマン肺吸虫症患者に由来する血清検体

- ① Pw225: 摘出肺組織の病理組織標本を検索し、虫嚢内に寄生する成虫の形態と遺伝子配列により原因種を種同定(3倍体型)した患者の血清(杉山ら, Clin. Parasitol. 12, 59-62, 2001)。
- ② Pw457: 喀痰中に排出された虫卵の形態と遺伝子配列から原因種を種同定(2倍体型)した患者の血清(杉山ら, Clin. Parasitol. 15, 37-39, 2004)。
- ③ Pw804: 喀痰中に排出された虫卵の形態と遺伝子配列から原因種を種同定(3倍体型)した患者の血清。
- ④ Pw901: 喀痰中に排出された虫卵の形態と遺伝子配列から原因種を種同定(染色体構成は未同定)した患者の血清。

B. 宮崎肺吸虫症患者に由来する血清検体

- ① Pm467: 腹腔から検出された成虫の形態と遺伝子配列から原因種を種同定した患者の血清(杉山ら, Clin. Parasitol. 14, 57-60, 2003)。
- ② Pm801: 喀痰中に排出された虫卵の形態と遺伝子配列から原因種を種同定した患者の血清(田尻ら, Clin. Parasitol. 19, 86-88, 2008)。
- ③ Pw807: 摘出肺組織の病理組織標本を検索し、虫嚢内に寄生する成虫の形態と遺伝子配列から原因種を同定した患者の血清(寺島ら, Clin. Parasitol. 20, 43-45, 2009; 次項2-2参照)。

C. 両種肺吸虫に混合感染した患者に由来する血清検体

① Pw/Pm809：喀痰中に排出された虫卵の形態と遺伝子配列から両種の混合感染があることを明らかにした患者の血清（高坂ら，論文作成中）。

3) 新型キットの評価

供試血清を用いて，旧型キットと新型キットが診断に適用できるかを評価した。各キットを用いた反応の後，キット・デバイスのニトロセルロース膜面を肉眼的に観察し，判定ラインの発色程度に応じて陽性，弱陽性，陰性の3段階に分け，供試血清の反応性を表現した。得られた成績について，micro-ELISA および旧型キット（フロースルー免疫測定法）で得た成績と比較した。

C. 研究結果

1) micro-ELISA による抗体価の測定結果

患者血清の抗体価を micro-ELISA により測定したところ，患者の原因種と診断用抗原の由来種とが一致した場合に，高い吸光度が得られた。一方で，異種の抗原を測定に用いた場合は，同種の抗原と同様に高い吸光度を示すか，あるいは肺吸虫症と診断できる範囲で多少（最大で25%程度）吸光度が低下した。混合感染の血清は，いずれの抗原に対しても高い吸光度を示した（表 1）。

2) 旧型キット（抽出粗抗原を用いたフロースルー免疫測定法に基づくキット）の評価

旧型キットを評価したところ，同種抗原のキットでは確実に診断され，しかも反応の程度は異種抗原のキットと同等か，それより強いことが分かった。なお，異種抗原のキットでは，陰性となる場合が1例だけ認められた（Pw457）。

3) 新型キット（ES 抗原を用いた免疫クロマトグラフィー法に基づくキット）の評価

今回，我々で作成した新型キットを評価したところ，同種抗原のキットでは確実に診断され，しかも反応の程度は1例を除いて，異種抗原の

キットと同等か，それより強いことが分かった。1例だけは（Pw0901），異種抗原のキットに対してより強い反応が認められた。ただし，結果が陰性となる場合は，1例も認められなかった。

表 1. 肺吸虫症患者の血清診断結果の比較

ト 血清	micro-ELISA		旧型キット (FT 法)		新型キット (IC 法)	
	PwH	PmH	PwH	PmH	PwES	PmES
	Pw-225	0.830	0.616	+	+	ND
Pw-457	0.952	0.941	++	-	++	+
Pw-804	0.936	0.885	++	+	+++	+
Pw-901	0.804	0.789	++	+	+	++
Pm-467	1.036	1.030	++	++	++	++
Pm-801	0.991	1.015	+	++	+	+++
Pm-807	0.923	0.924	+	+	+	+++

1) PwH：ウエステルマン肺吸虫抽出粗抗原；PmH：宮崎肺吸虫抽出粗抗原；PwES：ウエステルマン肺吸虫 ES 抗原；PmES：宮崎肺吸虫 ES 抗原；2) +++：強陽性；++：陽性；+：弱陽性；-：陰性；3) ND：実施せず

D. 考察

本研究の結果，我々が作製した新型キット（ES 抗原を用いた免疫クロマトグラフィー法）で，本邦のウエステルマン肺吸虫症患者および宮崎肺吸虫症患者が，混合感染事例も含めて，的確に診断できることが分かった。また異種抗原を用いたキットでも，micro-ELISA と同様に，肺吸虫症との診断には遺漏がなかった。原因種が明らかでない地域では，本キットのこの特徴が，大きな利点になると考えられた。

今後の課題として，抗IgG4を2次抗体に用いた検討を行う予定である。micro-ELISAの系で2次抗体に抗IgG4を用いると，抗IgGを用いた場合に比べて，測定時点における感染の有無を的確に判定できることが報告されている。また，抗原分子の特定を進める予定にしている。有用なペプチド抗原などが調整できれば，キットの量産が容易になる。原因種の鑑別を確実に

する診断キットも、このような取り組みを進める過程で、作製が可能になると考えている。

E. 結論

簡便で迅速な肺吸虫症免疫血清診断法の確立を目的に、免疫クロマトグラフィー法に基づく診断キットを作製し、本邦の肺吸虫症患者（ウェステルマン肺吸虫症と宮崎肺吸虫症）に適用可能であるか検討した。その結果、本診断キットで本邦の肺吸虫症患者を診断できることが明らかとなった。また、キットの作製に用いた抗原の由来種と肺吸虫症患者の原因種とが一致しない場合でも、本キットにより肺吸虫症との診断結果が得られることも示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

2-2. 血清パネルの構築時に見出した虫嚢内成虫寄生を認めた宮崎肺吸虫症の一例

A. 研究目的

肺吸虫症の迅速診断キット開発に関連して、血清パネルの充実に努めている。その過程で今年度は、日本人男性の切除肺に虫嚢が形成され、肺吸虫成虫が寄生する事例を経験した。虫嚢内虫卵、および切除肺の組織標本に認めた成虫を出発材料として、形態と塩基配列を調べ、原因種の同定を試みた。

B. 研究方法

症例は 57 歳の日本人男性（滋賀県在住）。発咳と血痰を主所見として検査を受け、胸部 CT で右肺下葉・胸膜直下に、径 3cm の結節性陰影が指摘された。その周囲にも、径 0.5cm 以下の小結節性陰影が複数個、認められた。PET では、

結節性陰影に一致して、検査薬 FDG の強い集積を認めた。このため、悪性病変の可能性が否定されず、当該部分・肺組織の部分切除術（4 x 2 x 2cm）が施行された。切除組織を病理検索したところ、悪性病変は全く認められず、虫体を取り囲む膿瘍・肉芽組織からなる主結節（虫嚢）と、虫卵および中心壊死を伴った複数個の肉芽腫が認められた。

C. 研究結果

膿汁に認めた虫卵は 73 x 46 ミクロンで、無蓋端部に肥厚はなかった。この虫卵と切除肺・組織標本の成虫を出発材料とし、リボソーム DNA・ITS2 領域の塩基配列解読と PCR-RFLP による解析を行ったところ、原因種は宮崎肺吸虫と同定された。

D. 考察

宮崎肺吸虫による人体症例の報告は散見されるが、肺の病理組織標本上に成虫を証明した事例は報告がない。本症例の組織標本上に検出された虫体は、卵巣が発達し、精巣内には精子形成の種々の過程が豊富に観察されたことから、虫体を成虫と判定した。病理組織標本に観察された本虫の子宮内には虫卵を認めなかったが、虫体周囲の膿汁中の虫卵は、本成虫が産卵したものと考えられた。

宮崎肺吸虫が肺の虫嚢内に定着し、排卵を認めた症例は既に報告されている。ヒト体内で虫体が成熟し得た理由として、ステロイドの投与や中間宿主サワガニの頻回・多量摂食が指摘されている。本例でも、過去にステロイド治療が施されていた。

現在、迅速血清診断キットの精度管理を目的に、肺吸虫症患者の血清パネルの充実に努めている。疑い例が検出された場合は、本事例と同様に、積極的に原因種の種同定に取り組む予定である。このような検討に取り組み、原因虫種を確実にすることで、血清パネルがより一層充実すると期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugiyama, H., Umehara, A.,

Morishima, Y., Yamasaki, H. and

Kawanaka, M. Detection of

Paragonimus metacercariae in Japanese

freshwater crabs, *Geothelphusa*

dehaani, bought at retail fish markets

in Japan. Japanese Journal of

Infectious Diseases 62: 324-325,

2009.

2. 杉山 広. 食習慣を背景に発生する我が国の肺吸虫症. *Clinical Parasitology* (臨床寄生虫学会誌) 20: 9-11, 2009.

3. 寺島 剛, 竹内英二, 西尾久明, 石川将史, 山本徳栄, 荒木 潤, 杉山 広. 肺切除で宮崎肺吸虫の虫嚢内寄生を認めた1例. *Clinical Parasitology* (臨床寄生虫学会誌) 20: 43-45, 2009.

4. 杉山 広. 食品媒介寄生虫による食中毒. *日本食品微生物学雑誌*, 27: 印刷中, 2010.

2. 学会発表

1. 杉山 広. 食習慣を背景に発生する我が国の肺吸虫症. 第20回日本臨床寄生虫学会, 吹田, 2009年6月.

2. 寺島 剛, 竹内英二, 西尾久明, 石川将史, 山本徳栄, 荒木 潤, 杉山 広. 肺切除で宮崎肺吸虫の虫嚢内寄生を認めた1例. 第20回日本臨床寄生虫学会, 吹田, 2009年6月.

3. 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲, 山崎

浩. 食品媒介寄生蠕虫症: アニサキス症・肺吸虫症を例として. 第30回衛生微生物技術協議会総会・研究会, 堺, 2009年7月.

4. Sugiyama, H. and Rangsiruji, A. How many kinds of *Paragonimus westermani* are there? The 6th seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, December, 2009.

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

腸管寄生吸虫症の遺伝子診断法の開発に関する研究

研究分担者 森嶋康之（国立感染症研究所寄生動物部）

研究協力者 杉山 広（国立感染症研究所寄生動物部）

研究要旨

横川吸虫をはじめとするメタゴニムス属吸虫感染症は日本国内で最もよく認められる寄生蠕虫症である。その予防対策を立案する上で感染種の正確な種同定が重要であるが、本症が通常診断される糞便検査では、同科に属する吸虫類の虫卵が形態学的に類似することから、感染種を特定することが困難であった。今年度は、昨年度開発のマルチプレックス PCR 法による遺伝子診断法の改良を試みた。

A. 研究目的

日本国内における各種寄生蠕虫症の発生が年々減少している中、魚介類を感染源とする異形吸虫科に属する吸虫類の感染は依然として多発している。これは、もともと日本人が持つ魚介類に対する生食嗜好の高さに加え、低温流通体系の整備によって汚染魚が広範囲に流通するようになったことが原因と考えられている。さらに、海外旅行者が現地で魚介類を生食して感染する例も多い。

感染予防対策を立案するにあたり、感染種の正確な同定が必須である。しかしながら、異形吸虫科吸虫の虫卵は、種間のみならず、近縁属間でも形態学的に類似するため、通常の糞便検査で得られた虫卵を形態学的観察のみで鑑別することは困難である。

今年度は、顕微鏡検査において実際にメタゴニムス症と診断された臨床検体を対象として、昨年度開発したマルチプレックス PCR

法による感染種の鑑別を行うとともに、実験感染材料を用いて検査法としての信頼性の評価を行い、検出感度を向上させるため臨床検体からの DNA 抽出法の最適化を試みた。

B. 研究方法

本研究で用いた臨床検体はいずれも健康診断や人間ドックの糞便検査でメタゴニムス属吸虫の虫卵が証明されたものである。これらの検体からの寄生虫 DNA の抽出は、分離済み虫卵に対しては Proteinase K-SDS 法を、虫卵未分離の糞便に対しては QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH, Germany) をそれぞれ用いて行った。

実験感染材料は次のようにして得た。すなわち、シラウオから回収されたメタゴニムス属メタセルカリア約 1,000 個を健常人ボランティア 1 名に経口感染させ、経時的に糞便を採取した。感染後 14 日目にプラジクアンテ

ルの経口投与による駆虫を行い、感染を終了させた。

上記実験感染で得られた糞便材料は、マルチプレックス PCR 法の検出感度に関する評価に用いるとともに、市販の糞便検体用精製カラムによる DNA 抽出法の最適化にも利用した。

C. 研究結果

臨床検体 19 例についてマルチプレックス PCR 法による種同定を行った結果、宮田吸虫感染が 9 例、横川吸虫感染が 7 例、両種の混合感染例が 3 例であった。

実験感染 14 日間の検出感度は、従来法によって得た DNA 溶液を用いた場合では感染全期間を通じて 40%であった（プリパテント期 14%、パテント期 57%）。そこで、検体加熱温度の上昇、最終溶出液の濃縮、PCR 反応液への BSA 添加等により DNA 抽出法の改良と検出系の至適化を試みたところ、検出感度は 60%まで向上させることができた（プリパテント期 43%、パテント期 71%）。

D. 考察

メタゴニムス属吸虫の産卵数は少なく、産卵開始後のパテント期であっても必ずしも糞便内に虫卵が含まれるとは限らない。このような特徴が従来の糞便検査において偽陰

性を増やしていると考えられる。しかし、成虫が宿主腸管内に寄生していれば、虫卵以外にも何らかの虫体由来物質が糞便内に出現するものと推察される。

実際、今回の実験感染材料を用いた検討でも、糞便検体から寄生虫 DNA を効率よく抽出することをはかることで、虫卵の排出をとまなうパテント期の感染は無論、プリパテント期での感染をも捉えることが可能となった。遺伝子診断は正確な種同定のみならず、虫卵の排出に依存しない検査・診断の方法であり、臨床診断のみならず、疫学調査において有用なツールとなることが期待される。

E. 結論

メタゴニムス属の遺伝子診断を目的としたマルチプレックス PCR 法の検出感度の評価を行うとともに、感度を向上させるための改良を加えた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル 編集者名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	頁
津久井久美子, 野崎智義	腸管寄生性原虫の小胞輸送一病原機構における役割		実験医学	羊土社	東京	2009	1548-1556
Chung Chau Hon, Kumiko Nakada-Tsunakui, Tomoyoshi Nozaki and Nancy Guillén	Dissecting the Actin Cytoskeleton of Entamoeba histolytica from a Genomic Perspective.	C. Graham Clark, Patricia J. Johnson and Rodney D. Adam.	Anaerobic Parasitic Protozoa: Genomics and Molecular Biology	Caister Academic		March 2010	ISBN: 978-1-904455-61-5
Hamano, S. and William A. Petri Jr	Amoebiasis	Ralph Feigin; James Cherry; Gail J. Demmler; and Sheldon Kaplan, MD	Feigin and cherry's Textbook of Pediatric Infectious Disease, 6th edition	Elsevier	London	2009	2841-2849
丸山治彦	胆道寄生虫症	小川聡	内科学書 改訂第7版	中山書店	東京	2009	334-335
丸山治彦	鉤虫症 (十二指腸虫症)	山口徹、 北原光夫、 福井次矢	今日の治療指針 2010	医学書院	東京	2010	214-215
中西憲司	新しいアレルギーの概念	中西憲司, 山本一彦	アレルギー疾患の免疫機構 (実験医学、増刊)		東京	2009	12-17
安田好文 中西憲司	寄生虫感染時のサイトカイン動態	光山正雄, 北潔 野本明男	感染症 (実験医学、増刊号)	羊土社	東京	2009	225-231

著者氏名	論文タイトル 編集者名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	頁
善本知広 中西憲司	腸管寄生虫感 染と宿主応答	木下タロウ 熊ノ郷淳 竹田潔	感染現象 (蛋白、核酸、酵素、 増刊号)	共立出版	東京	2009	1066- 1072
井上幸次	感染性角膜炎 サーベイラン ス(眼感染症 学会)	大橋裕一	眼感染症の謎を解 く	文光堂	東京	2009	111
下村嘉一	CL 関連角膜 感染症全国調 査	大橋裕一	眼感染症の謎を解 く	文光堂	東京	2009	356

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Hussain, S., Ali, V., Jeelani, G., and Nozaki, T.	Isoform-dependent feedback regulation of serine O-acetyltransferase isoenzymes involved in L-cysteine biosynthesis of <i>Entamoeba histolytica</i> .	Mol. Biochem. Parasitol.	163	39-47	2009
Nakada-Tsukui, K., Okada, H., Mitra, B. N., and Nozaki, T.	Phosphatidylinositol-phosphates mediate cytoskeletal reorganization during phagocytosis via a unique modular protein consisting of RhoGEF/DH and FYVE domains in the parasitic protozoon <i>Entamoeba histolytica</i> .	Cell. Microbiol.	11	1471-1491	2009
Sato, D. and Nozaki, T.	Methionine gamma-lyase: the unique reaction mechanism, physiological roles, and therapeutic applications against infectious diseases and cancers.,	IUBMB Life	61	1019-1028	2009
Mi-ichi, F., Yousuf, M. A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T.	Mitosomes in <i>Entamoeba histolytica</i> contain a sulfate activation pathway.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	106	2173-2177	2009
Sato, D., Kobayashi, S., Yasui, H., Shibata, N., Toru, T., Yamamoto, M., Tokoro, G., Ali, V., Soga, T., Takeuchi, T., Suematsu, M., and Nozaki, T.	Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine to the enteric protozoan parasite <i>Entamoeba histolytica</i> .	Int. J. Antimicrob. Agents.	35	56-61	2010
Escueta-de Cadiz, A., Kobayashi, S., Takeuchi, T., Tachibana, H., and Nozaki, T.	Identification of an avirulent <i>Entamoeba histolytica</i> strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers.	Parasitol. Int.	59	75-81	2010
Maralikova, B., Ali, V., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., van der Giezen, M., Henze, K., and Tovar, J.	Bacterial-type oxygen detoxification and iron-sulphur cluster assembly in amoebal relict mitochondria.	Cell. Microbiol.	12	331-342	2010
Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., Ali, V., and Nozaki, T.	Characterization of two isotypes of L-threonine dehydratase from <i>Entamoeba histolytica</i> .	Mol. Biochem. Parasitol.	170	100-104	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Buss, S.N., Hamano, S., Vidrich, A., Evans, C., Zhang, Y., Crasta, O.R., Sobral, B.W., Gilchrist, C.A., Petri, W.A. Jr.	Members of the <i>Entamoeba histolytica</i> transmembrane kinase family play non-redundant roles in growth and phagocytosis.	Int J Parasitol.			2010
Watanabe, K., Kishihara, K., Hamano, S., Koga, M., Nomoto, K., Tada, I.	<i>Strongyloides ratti</i> : implication of mast cell-mediated expulsion through FcεRI-independent mechanisms.	Parasite	16	209-214	2009
Tetsutani, K., Ishiwata, K., Ishida, H., Tu, L., Torii, M., Hamano, S., Himeno, K., Hisaeda, H.	Concurrent infection with <i>Heligmosomoides polygyrus</i> suppresses anti- <i>Plasmodium yoelii</i> protection partially by induction of CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) Treg in mice.	Eur J Immunol	39	2822-2830	2009
吉田裕樹・濱野真二郎	原虫感染とIL-12サイトカインファミリー	蛋白質核酸酵素	54	1059-1065	2009
小林隆志・川澄みゆり・濱野真二郎	感染症制御における制御性T細胞	アレルギー・免疫	16	708-714	2009
Hirakawa, Y., Nagamune, K., and Ishida, K.	Protein targeting into secondary plastids of chlorarachniophytes	PNAS	106	12820-5	2009
永宗喜三郎	植物としてのトキソプラズマ原虫:植物ホルモンとカルシウムシグナリング	蛋白質核酸酵素	54	1047-1052	2009
青沼宏佳、田原美智留、永宗喜三郎	トキソプラズマ、増殖の仕組み	医事新報			<i>in press</i>
Senba Y, Tsuda K, Maruyama H, Kurokawa I, Mizutani H, Taniguchi Y.	Case of creeping disease treated with ivermectin.	Journal of Dermatology	36	86-89	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Enko K, Tada T, Ohgo KO, Nagase S, Nakamura K, Ohta K, Ichiba S, Ujike Y, Nawa Y, <u>Maruyama H,</u> Ohe T, Kusano KF.	Fulminant eosinophilic myocarditis associated with visceral larva migrans caused by <i>Toxocara canis</i> infection.	Circulation Journal	73	1344-1348	2009
Mogi, T., Matsushita, K., Murase, Y., Kawahara, Miyoshi, H., Ui, H., Shiomi, K., Ōmura, S. and <u>Kita, K.</u>	Identification of New Inhibitors for Alternative NADH Dehydrogenase (NDH-II).	FEMS Microbiol. Lett	291	157-161	2009
Kawahara, K., Mogi, T., Tanaka, Q. T., Hata, M., Miyoshi, H. and <u>Kita K.</u>	Mitochondrial Dehydrogenases in the Aerobic Respiratory Chain of the Rodent Malaria Parasite <i>Plasmodium yoelii yoelii</i>	J. Biochem	145	229-237	2009
. Mogi, T., Ui H., Shiomi, K., Ōmura, S., Miyoshi, H. and <u>Kita, K.</u>	Antibiotics LL-Z1272 identified as novel inhibitors discriminating bacterial and mitochondrial quinol oxidases.	Biochim Biophys. Acta (Bioenergetics)	1787	129-133	2009
Sakakibara, I., Fujino, T., Ishii, M., Tanaka, T., Shimosawa, T., Miura, S., Zhang, W., Tokutake, Y., Yamamoto, J., Awano, M., Iwasaki, S., Motoike, T., Okumura, M., Inagaki, T., <u>Kita, K.</u> , Ezaki, O., Naito, M., Kuwaki, T., Chohnan, S., Yamamoto, T., Hammer, R. E., Kodama, T., Yanagisawa, M. and Sakai, J	Fasting induced hypothermia and reduced energy production in mice lacking Acetyl-CoA Synthetase 2	Cell Metabolism,	9	191-202	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Morales, J., Mogi, T., Mineki, S., Takashima, E., Mineki, R., Hirawake, H., Sakamoto, K., Ōmura, S. and <u>Kita, K.</u>	Novel Mitochondrial Complex II Isolated from <i>Trypanosoma cruzi</i> is Composed of Twelve Peptides Including a Heterodimeric Ip Subunit	J. Biol. Chem.	284	7255-7263	2009
Osanai, A., Harada, S., Sakamoto, K., Shimizu, H., Inaoka, D. K., and <u>Kita, K.</u>	Crystallization of mitochondrial rhodoquinol-fumarate reductase from the parasitic nematode <i>Ascaris suum</i> with specific inhibitor, flutolanil	Acta Crystallogr	F65	941-944	2009
Mogi, T. and <u>Kita, K.</u>	Identification of mitochondrial Complex II subunits SDH3 and SDH4 and ATP synthase subunits <i>a</i> and <i>b</i> in <i>Plasmodium</i> spp.	Mitochondrion,	9	443-453	2009
Matoba, K., Nara, T., Aoki, T., Honma, T., Tanaka, A., Inoue, M., Matsuoka, S., Inaoka, D.K., <u>Kita, K.</u> and Harada, S.	Crystallization and preliminary X-ray analysis of aspartate transcarbamoylase from the parasitic protist <i>Trypanosoma cruzi</i> . Crystallization and preliminary X-ray analysis of aspartate transcarbamoylase from the parasitic protist <i>Trypanosoma cruzi</i> .	Acta Crystallogr	F65	933-936	2009
Sasaki, N., Hirai, M., Maeda, K., Yui, R., Itoh, K., Namiki, S., Morita, T., Hata, M., Murakami-Murofushi, K., Matsuoka, H., <u>Kita, K.</u> , Sato, S.	The <i>Plasmodium</i> HU homolog, which binds the plastid DNA sequence-independent manner, is essential for the parasite's survival.	FEBS Lett.	583	1446-1450	2009
Maréchal, A., Kido, Y., <u>Kita, K.</u> Moore, A. and Rich, P.	Three redox states of <i>Trypanosoma brucei</i> alternative oxidase identified by infrared spectroscopy and electrochemistry	J. Biol. Chem.	284	31827-31833	2009
Balogun, O. E., Inaoka, D. K., Kido, Y., Shiba, T., Nara, T., Aoki, T., Honma, T., Tanaka, A., Inoue, M., Matsuoka, S., Michels, P. AM., Harada, S. and <u>Kita, K.</u>	Overproduction, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of <i>Trypanosoma brucei gambiense</i> glycerol kinase	Acta Crystallogr	F66	304-308	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Kido, Y., Sakamoto, K., Nakamura, K., Harada, M., Suzuki, T., Yabu, Y., Saimoto, H., Yamakura, F., Ohmori, D., Moore, A., Harada, S. and Kita, K.	Purification and kinetic characterization of recombinant alternative oxidase from <i>Trypanosoma brucei brucei</i> .	Biochim Biophys. Acta (Bioenergetics)	1797	443-450	2010
Kido, Y., Shiba, T., Inaoka, D. K., Sakamoto, K., Nara, K., Aoki, T., Honma, T., Tanaka, A., Inoue, M., Matsuoka, S., Moore, A., Harada, S. and Kita, K.	Crystallization and preliminary crystallographic analysis of cyanide-insensitive alternative oxidase from <i>Trypanosoma brucei brucei</i>	Acta Crystallographica	F66	275-278	2010
Paranagama, M. P., Sakamoto, K., Amino, H., Awano, M., Miyoshi, H. and Kita, K.	Contribution of the FAD and quinone binding sites to the production of reactive oxygen species (ROS) from <i>Ascaris suum</i> mitochondrial complex II	Mitochondrial	10	158-165	2010
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 TIRJ domain-containing adapter inducing IFN-beta-mediated IL-18 release to LPS-induced liver injury in mice.	TIRJ 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+ 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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Kobayashi S., Suzuki J. and Takeuchi T.	Establishment of a continuous system for <i>Entamoeba muris</i> and analysis of the small subunit rRNA gene.	Parasite	16(2)	135-139	2009
Tachibana H, Yanagi T, Akatsuka A, Kobayashi S, Kanbara H, Tsutsumi V	Isolation and characterization of a potentially virulent species <i>Entamoeba nuttalli</i> from captive Japanese macaques.	Parasitology	136(10)	1169-1177	2009
Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S, Takeuchi T.	Involvement of serine proteases in the excystation and metacystic development of <i>Entamoeba invadens</i> .	Parasitology Res	105(4)	977-987	2009
Sato D, Kobayashi S, Yasui H, Shibata N, Toru T, Yamamoto M, Tokoro G, Ali V, Soga T, Takeuchi T, Suematsu M, Nozaki T.	Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine against the enteric protozoan parasite <i>Entamoeba histolytica</i> .	Int J Antimicrob Agents	35(1)	56-61	2010
Escueta-de Cadiz A, Kobayashi S, Takeuchi T, Tachibana H, Nozaki T.	Identification of an avirulent <i>Entamoeba histolytica</i> strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers.	Parasitology Int	In press	2010	2009
小林正規	赤痢アメーバ	日本臨床(増刊号), 広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(3) —その数値をどう読むか—	印刷中		2010
Araki-Sasaki K, Inoue Y et al.	<i>Candida albicans</i> keratitis modified by steroid application	Clinical Ophthalmology	3	1-3	2009
Miyanaga M, Inoue Y et al.	Changes in drug susceptibility and the quinolone-resistance determining region of <i>Staphylococcus epidermidis</i> after administration of fluoroquinolones.	J Cataract Refract Surg	35	1970-1978	2009
池田欣史, 井上幸次ほか	鳥取大学における若年者の角膜感染症の現状.	あたらしい眼科	26	815-819	2009
稲田耕大, 井上幸次ほか	コリネバクテリウムが起炎菌と考えられた感染性角膜炎の1例.	あたらしい眼科	26	1105-1107	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
佐伯有祐、井上幸次ほか	<i>In vitro</i> 薬剤感受性検査によるトスフロキサシン単剤投与有効性の検証	あたらしい眼科	26	1393-1399	2009
井上幸次	コンタクトレンズ関連角膜感染症の診断と治療	日本の眼科	80	687-691	2009
福田昌彦	コンタクトレンズ関連角膜感染症の実態と疫学	日本の眼科	80	693-698	2009
井上幸次	「感染性角膜炎診療ガイドライン」のポイントと補足	あたらしい眼科	26	899-904	2009
井上幸次	最近の感染性角膜炎の日本での動向は？	あたらしい眼科	26	臨増 51-52	2009
報告 井上幸次	ソフトコンタクトレンズ用消毒剤のアカントアメーバに対する消毒性能—使用実態調査も踏まえて—	独立行政法人国民生活センター			平成21年12月16日
Kato-Hayashi N, Kirinoki M, Iwamura Y, Kanazawa T, Kitikoon V, Matsuda H, Chigusa Y.	Identification and differentiation of human schistosomes by polymerase chain reaction	Experimental Parasitology	124	325-329	2010
Asahi, H	<i>Plasmodium falciparum</i> : Chemically defined medium for continuous intraerythrocytic growth using lipids and recombinant albumin.	Exp. Parasitol.	121	22-28	2009
Izumiyama, S., Omura, M., Takasaki, T., Ohmae, H. and Asahi, H.	<i>Plasmodium falciparum</i> : Development and validation of a measure of intraerythrocytic growth using SYBR Green I in a flow cytometer.	Exp. Parasitol.	121	144-150	2009
安倍正史、白倉哲郎、中村文規、木村 聡、関忠之、仲村美佐子、福富裕之、朝日博子、八木田健司、塩川 章	病理解剖用遺体に認められた原虫について	Clinical Parasitol.	19	49-54	2008
Yamasaki H, Kuramochi T.	A case of <i>Diphyllobothrium nihonkaiense</i> infection possibly linked to salmon consumption in New Zealand	Parasitology Research	105	583-586	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Mercado R, Yamasaki H, Kato M, Muñoz V, Sagua H, Torres P, Castillo D.	Molecular identification of the <i>Diphyllobothrium</i> species causing diphyllobotriasis in Chilean patients	Parasitology Research	106	995-1000	2010
Shirakawa K, Yamasaki H, Miyajima H.	Cerebral sparganosis: The wandering lesion	Neurology	74	180	2010
山崎 浩, 川中 正憲, 荒川 京子, 森有加, 杉山 広, 森嶋康之, Mercado R, 加藤基恵	南米チリよりDNA鑑別依頼のあった裂頭条虫について	Clinical Parasitology	20	27-29	2010
小出照子, 山崎浩, 渡辺伸元, 木許泉, 河邊 太加志	虫体の遺伝子解析により診断された日本海裂頭条虫症の兄妹例	日本小児科学会雑誌	114		2010 (印刷中)
姜 朱美, 住田 菜穂子, 福田均, 杉山広, 山崎 浩	皮膚二核顎口虫症	皮膚科診療	31	977-980	2009
Sugiyama, H., Umehara, A., Morishima, Y., Yamasaki, H. and Kawanaka, M.	Detection of <i>Paragonimus</i> metacercariae in Japanese freshwater crabs, <i>Geothelphusa dehaani</i> , bought at retail fish markets in Japan.	Japanese Journal of Infectious Diseases	62	324-325	2009
Singh, S.T., Sugiyama, H., Umehara, A., Hiese, S. and Khat o, K.	<i>Paragonimus heterotremus</i> infection in Nagaland: a new focus of paragonimiasis in India.	Indian Journal of Medical Microbiology	27	123-127	2009
Madarame, H., Suzuki, H., Saitoh, Y., Tachibana, M., Habe, S., Uchida, A. and Sugiyama, H.	<i>Paragonimus miyazakii</i> ectopic infection in the subcutis showing a mass including worm cysts, egg granuloma and metazoal lymphadenitis.	Veterinary Pathology	46	945-948	2009
Takeda, M., Sugiyama, H. and Qian, B-Z.	Records of three species of freshwater crabs from China.	Journal of Teikyo Heisei University	20	193-202	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Sakudoh, T., Iizuka, T., Narukawa, J., Sezutsu, H., Kobayashi, I., Kuwazaki, S., Banno, Y., Kitamura, A., Sugiyama, H., Takada, N., Fujimoto, H., Kadono-Okuda, K., Mita, K., Tamura, T., Yamamoto, K. and Tsuchida, K.	A CD-36 related transmembrane protein is coordinated with an intracellular lipid-binding protein in selective carotenoid transport for cocoon coloration.	Journal of Biological Chemistry	285	7739-7751	2010
杉山 広	食習慣を背景に発生する我が国の肺吸虫症.	Clinical Parasitology	20	9-11	2009
寺島 剛, 竹内英二, 西尾久明, 石川将史, 山本徳栄, 荒木 潤, 杉山 広.	肺切除で宮崎肺吸虫の虫嚢内寄生を認めた1例.	Clinical Parasitology	20	43-45	2009
梅原 梓里, 荒木 潤, 川上 泰, 内田 明彦, 杉山 広.	アニサキスの分類学的解析: 人への感染源の特定に向けたサバ由来虫体の検索.	日本獣医寄生虫学会誌	8	52	2009
多々良成紀, 杉山 広, 熊沢秀雄, 斑目広郎.	日本で飼育されていたミーアキャットに宮崎肺吸虫の寄生を認めた一剖検例.	日本野生動物医学学会誌,	15	印刷中	2010
杉山 広.	食品媒介寄生虫による食中毒.	日本食品微生物学雑誌	27	印刷中	2010

IV. 研究成果の刊行物・別刷

6. 腸管寄生性原虫の小胞輸送 —病原機構における役割

津久井久美子, 野崎智義

細胞内小胞輸送は真核生物にユビキタスに存在する必須の物質輸送系である。基本的な輸送経路と関与する分子群, さらにその機能を調節する分子機構は, 酵母をはじめとする単細胞生物からヒト・植物まで保存されている。しかしながら, 原生生物(原虫)では小胞輸送は特殊な進化を遂げると同時に, 寄生や病原性においても重要な役割を演じるようになった。本稿ではヒトにアメーバ赤痢(赤痢アメーバ症)を起こす寄生虫である赤痢アメーバを例にとって, 独自に進化した寄生性原虫の小胞輸送の分子機構とその病原性における役割を紹介する。

はじめに

WHOの定義する低所得国・地域において感染症は死亡原因の約1/4~1/3を占め, そのうち呼吸器感染症(11.2%), 腸管感染症(6.9%), HIV/AIDS(5.7%), マラリア(3.3%)が大部分を占める¹⁾。腸管感染症の中でも赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)によって引き起こされるアメーバ赤痢^{*1}は世界で年間5,000万人が罹患, 10万人の死者を出しており, 発展途上国で5歳以下の子供たちの主な死亡原

因の1つである²⁾。日本国内でも海外渡航者にとどまらず, 知的障害者や男性同性愛者の間での蔓延が報告され, 2008年の厚生労働省への届出数が800を超えるなど, 感染者は確実に増加している³⁾。

現在の赤痢アメーバ症基礎研究の潮流は, 病原因子・病原機構, 分化, 遺伝子発現調節, オルガネラ進化, 代謝などきわめて多岐に渡るが, 2005年に開示されたゲノム情報^{4) 5)}を基盤として“-omics”を駆使した統合的な研究が実現している。その一方で, “-omics”研究の限界から, 個別の分子・経路を理解

【キーワード&略語】

赤痢アメーバ, プロテアーゼ輸送, 低分子量Gタンパク質, レトロマー複合体

AP : amoebapore (アメーバポア)

CP : cysteine protease (システインプロテアーゼ)

CPBF : cysteine protease binding protein family

ICP : inhibitor of CP (CP阻害タンパク質)

M6P : mannose 6-phosphate (マンノース6-リン酸)

MPR : M6P receptor (M6P受容体)

PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase (ホスファチジルイノシトール3キナーゼ)

PI3P : phosphatidylinositol 3-phosphate (ホスファチジルイノシトール3リン酸)

PPV : prephagosomal vacuole (前貪食胞)

TGN : trans-golgi network (トランスゴルジネットワーク)

VCA : verprolin homology, cofilin homology and acidic motif

WASP : Wiskott-Aldrich syndrome protein

Membrane traffic in the enteric protozoan parasite-its role in the pathogenesis

Kumiko Nakada-Tsukui/Tomoyoshi Nozaki : Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases (国立感染症研究所寄生動物部)