

- (7) キラーT細胞分化因子の解明(世界に先駆けて発見)。CD4+ヘルパーT細胞からキラーT細胞分化因子が産生され直接 CD8+キラーT細胞に働くことを世界に先駆けて明らかにした。(J.Immunol 1979, 1980, 1981, 1982)
- (8) 「腫瘍免疫に関するヒト T細胞ハイブリドーマ由来キラーT細胞分化因子の解析」(昭58~59) 文部科研「がん」特別研究(主任研究者)
- (9) 種々のサイトカイン(B細胞増殖因子、B細胞分化因子、キラーT分化因子 IL-2)をそれぞれ産生するヒトT細胞ハイブリドーマの確立(世界で最初)。これらの分子は異なることを明らかにした。B細胞分化因子(後に IL-6 と命名)を最初に発見。IL-6は強力なキラーT分化因子の発見(Okada et al. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 1981, J.Exp.Med. 1983, J.I. 1981, 1982, 1986, 1988)。ヒト生体免疫解析モデル SCID-PBL/huの最初の確立。(Cancer Res. 1997)

・これまでの研究実績

- (1) **Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray D.N, Dela Cruz E.C, Tan E.V, Abalos R.M, Burgos J.A, Saunderson P, Sakatani M.: Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. Vaccine. 27:3267-3270,2009.**
- (2) **Okada M, Kita Y: Tuberculosis Vaccine Development :The development of novel (preclinical) DNA vaccine. Human Vaccine (in press)**
- (3) Shojima J, Tanaka G, Keicho N, Tamiya G, Ando S, Oka A, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Kajiki A, Nagai H, Kurashima A, Oketani N, Hayakawa H, Takemura T, Nakata K. Ito H, Morita T, Matsushita I, Hijikata M, Sakurada S, Sasazuki T, Inoko H.: Identification of MICA as a susceptibility gene for pulmonary Mycobacterium avium complex infection. J.Infect. Dis. 199:1707-1715,2009.
- (4) **Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the INNO-LiPA Mycobacteria v2 for Mycobacterial identification, Kekkaku 84: 15-21, 2009**
- (5) Kannan-Hayashi Y, Okamura K, Hattori S, Uwamura M, Higuchi E, Terayama H, Moriyama M, Mukamoto M, Okada M, Ohsugi Y and Nakamura Y.: Neuritogenic effects of T cell-derived IL-3 on mouse splenic sympathetic neurons. J. Immunol. 2008; 180(6): 4227-34.
- (6) **Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. Kekkaku. 83:577-583.2008**
- (7) Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Matsumoto M, McMurray D.N., Dela Cruz E.C., Tan E.V., Abalos R.M., Burgos J.A., Gelber R, Sakatani M.: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Vaccine. 2007;25(16):2990-3
- (8) Mai HN, Hijikata M, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kimura K, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Nagai H, Kurashima A, Kajiki A, Oketani N, Hayakawa H, Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Sakurada S, Tokunaga K, Keicho N.: Pulmonary Mycobacterium avium complex infection associated with the IVS8-T5 allele of the CFTR gene. Int J Tuberc Lung Dis. 2007;11(7):808-13.
- (9) Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JSM, Chen P-J, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. Vaccine. 2007;25(16):3038-40.
- (10) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Okada M, Sakatani M.: Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis-Comparision between Multidrug-Resistant Strains and Pan-Sensitive Strains. Kekkaku. 2007;82(6):531-8.

- (11)Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Okada M, Sakatani M.:Molecular epidemiological analysis of Mycobacterium kansasii isolates. *Kekkaku*. 2007;82(2):103-10.
- (12)Yoshida S, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Inoue Y, Sakatani M, Kobayashi E, Kaneda Y, Okada M.: DNA vaccine using hemagglutinating virus of Japan-liposome encapsulating combination encoding mycobacterial heat shock protein 65 and interleukin-12 confers protection against Mycobacterium tuberculosis by T cell activation. *Vaccine*. 2006;24 1191-1204
- (13)Nakano H, Nagata T, Suda T, Tanaka T, Aoshi T, Uchijima M, Chida K, Nakamura H, Okada M, Koide Y.: Immunization with dendritic cells retrovirally transduced with mycobacterial antigen 85A gene elicits the specific cellular immunity including cytotoxic T-lymphocyte activity specific to an epitope on antigen 85A. *Vaccine*. 2006;24(12):2110-9
- (14)Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Izumiya M, Yoshida S, Matsumoto M, Kase T, Peiris M, DeMello D, Chen P.J, Yamamoto Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M. : Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2006; 581-566
- (15)Watanabe Y, LePage S, Elliott M, Secrist H, Tanaka T, Kawahara M, Matsumura A, Hosoe S, Ogawara M, Okada M, Repasky B, Sleath P, Wang T, Henderson R.; Characterization of preexisting humoral immunity specific for two cancer-testis antigens overexpressed at the mRNA level in non-small cell lung cancer. *Cancer Immunity*.2006; 13: 3.
- (16)Tsuyuguchi K, Yoshida S, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.:Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis. *Kekkaku*. 2006;81:80-81.
- (17)Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Detection of rpoB mutations in rifampicin-resistant Mycobacterium kansasii. *Kekkaku*. 2006;81(7) 475-9.
- (18)Kita Y, Tanaka T, Yoshida S, Ohara N, Kaneda Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Inoue Y, Takemoto Y, Naito M, Yamada T, Matsumoto M, McMurray DN, Cruz EC, Tan EV, Abalos RM, Burgos JA, Gelber R, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M, Okada M. : Novel recombinant BCG- and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. *Vaccine* 2005; 23: 2132-5.
- (19)Okada M, Tanaka T, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Muraki Y, Kuwayama S, Izumiya M, Matsumoto M, Sakatani M. : In Vivo Efficacy of Novel Antituberculous Candidate OPC-67683 against Multidrug-Resistant M.tuberculosis (MDR-TB) using SCID Mice and SCID-PBL/hu Mice. 45th ICAAC. F-1463, 2005.
- (20)Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, Shigeto E, Harada N, Mitarai S, Okada M, Suzuki K, Inoue Y, Tsuyuguchi K, Sasaki Y, Mazurek GH, Tsuyuguchi I.: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;70(1):59-64
- (21)Miki K, Nagata T, Tanaka T, Kim YH, Uchijima M, Ohara N, Nakamura S, Okada M, Koide Y.: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis by recombinant attenuated self-destructing Listeria monocytogenes strains harboring eukaryotic expression plasmids for antigen 85 complex and MPB/MPT51. *Infect Immun*. 2004;72(4):2014-21.
- (22)Yoshida S, Kondoh D, Arai E, Matsuoka H, Seki C, Tanaka T, Okada M, Ishii A.: Baculovirus virions displaying Plasmodium berghei circumsporozoite protein protect mice against malaria sporozoite infection. *Virology* 2003, 316(1): 161-70.
- (23)Wang T, Fan L, Watanabe Y, McNeill PD, Moulton GG, Bangur C, Fanger GR, Okada M, Inoue Y, Persing DH, Reed SG.: L523S, an RNA-binding protein as a potential therapeutic target for lung cancer. *Br J Cancer*. 2003 88(6):887-94.
- (24)Watanabe K, Ryll R, Fujiwara N, Hasunuma R, Kumazawa Y, Okada M, Yano I :

Mycobacterial cord factor, but not sulfo lipid, causes depletion of NKT cells and upregulation of CD1d1 on murine macrophages. *Microbiol. Pathogenesis* 3: 611-619 2001

- (25) Iwasaki T, Nakashima M, Watanabe T, Yamamoto S, Inoue Y, Yamanaka H, Matsumura A, Iuchi K, Mori T, Okada M: Expression and prognostic significance in lung cancer of human tumor-associated antigen RCAS1. *Int. J. Cancer* 89: 488-493, 2000
- (26) Tanaka F, Abe M, Akiyoshi T, Nomura T, Sugimachi K, Kishimoto T, Suzuki T, Okada M: The anti-human tumor effect and generation of human cytotoxic T cells in SCID mice given human peripheral blood lymphocytes by the in vivo transfer of the Interleukin-6 gene using adenovirus vector. *Cancer Research* 57: 1335-1343, 1997
- (27) Ezaki I, Okada M, Yoshikawa Y, Fujikawa Y, Hashimoto M, Otuka M, Nomura T, Yamamoto K, Watanabe T, Shingu M, Nobunaga M.: Human monoclonal rheumatoid factors augment arthritis in mice by the activation of T cells. *Clin. Exp. Immunol.* 104: 474-482, 1996
- (28) Okada M, Kishimoto T: The potential application and limitations of cytokine/growth factor manipulation in cancer therapy. In "Cell Proliferation in Cancer: Regulatory Mechanisms of Neoplastic Cell Growth" (Ed.) Puztai L, Lewis C and Yap E, pp218-244, Oxford University Press, Oxford, 1996
- (29) Shirasaka T, Kawase I, Okada M, Kitahara M, Ikeda T, Hosoe S, Komuta K, Yokota S, Masuno T and Kishimoto S: Augmentative effect of *Nocardia rubra* cell wall skeleton (N-CWS) on the induction of human lymphokine-activated killer (LAK) cells by the production of LAK helper factor (s). *Cancer Immunol. Immunother.* 30: 195-204, 1990
- (30) Kitahara M, Kishimoto S, Hirano T, Kishimoto T and Okada M: The in vivo anti-tumor effect of human recombinant IL-6. *Jpn. J. Cancer Res.* 81: 1032-8. 1990
- (31) Fukuta K, Sone S, Kitahara M, Okada M, Ogura T.: Enhancement of therapeutic effect of interleukin-2 on spontaneous pulmonary metastases of Lewis lung carcinoma by killer helper factor (KHF) associated with increased induction of killer activity. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 562-569, 1989
- (32) Okada M, Kitahara M, Kishimoto S, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T: IL-6/BSF-2 functions as a killer helper factor in the in vitro induction of cytotoxic T cells. *J. Immunol.* 141: 1543-9. 1988
- (33) Okada M, Yoshimura N, Ichimori Y, Kishimoto S, Nakai S, Nishino N, Kishimoto T: Immunological and molecular characterizations of T cell-derived T cell activating factor. *J. Immunol.* 136: 1288-1294, 1986
- (34) Kishimoto T, Yoshizaki K, Kimoto M, Okada M, Kuritani T, Kikutani H, Shimizu K, Nakagawa T, Nakagawa N, Miki Y, Kishi H, Fukunaga K, Yoshikubo T, Taga T: B cell growth and differentiation factors. *Immunol. Rev.* 78: 97-118, 1984
- (35) Kishimoto T, Yoshizaki K, Okada M, Kuritani T, Kikutani H, Shimizu K, Nakagawa T, Nakagawa N, Miki Y, Kishi H, Fukunaga K, Taga T: Growth and differentiation factors and activation on human B cells. *Lymphokines* 10: 15-28, 1985
- (36) Okada M, Sakaguchi N, Yoshimura N, Hara H, Shimizu K, Yoshida N, Yoshizaki K, Kishimoto S, Yamamura Y, Kishimoto T: B cell growth factors and B cell differentiation factor from human T hybridomas; two distinct kinds of B cell growth factor and their synergism in B cell proliferation. *J. Exp. Med.* 157: 583-589, 1983
- (37) Kaieda T, Okada M, Yoshimura N, Kishimoto S, Yamamura Y, Kishimoto T: A human helper T cell clone secreting both killer helper factor (s) and T cell replacing factor (s). *J. Immunol.* 129: 46-51, 1982
- (38) Kishimoto T, Okada M, Kaieda T, Yoshimura N: Immunoregulatory molecules (Lymphokines) secreted from human monoclonal T cell lines. In "Self-Defense Mechanisms" (Ed.) Mizuno Z, Cohn A, Takeya K and Ishida N, pp.137-151, Elsevier North Holland, New York, 1982
- (39) Kishimoto T, Suemura M, Sugimura K, Okada M, Nakanishi K, Yamamura Y: Characterizations of T cell-derived Immunoregulatory molecules from murine or human T hybridomas. *Lymphokines* 5: 129-160, 1981
- (40) Okada M, Yoshimura N, Kaieda T, Yamamura Y, Kishimoto T: Establishment and

characterization of human T hybrid cells secreting Immunoregulatory molecules. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 78: 7717-7722, 1981

- (41) Kern DE, Gillis S, Okada M, Henney CS : The role of Interleukin-2 (IL-2) in the differentiation of cytotoxic T cells ; The effect of monoclonal anti-IL-2 antibody and absorption with IL-2 dependent T cell lines. J. Immunol. 127: 1323-1328, 1981
- (42) Okada M, Stanton TH, Kuppers RC, Henney CS : The differentiation of cytotoxic T cells in vitro. IV. Interleukin-2 production in primary mixed lymphocyte cultures involves cooperation between Qa-1⁺ and Qa-1⁻ "helper" T cells. J. Immunol. 126: 1635-1639, 1981
- (43) Okada M, Henney CS : The differentiation of cytotoxic T cells in vitro, III. The role of helper T cells and their product in the differentiation of cytotoxic cells from "memory" cell populations. J. Immunol 125: 850-857, 1980
- (44) Okada M, Henney CS : The differentiation of cytotoxic T cells in vitro, II. Amplifying factor(s) produced in primary mixed lymphocyte cultures against K/D stimuli require the presence of Lyt2+ cells but not Lyt1+ cells. J. Immunol. 125: 300-307, 1980
- (45) Klimpel GR, Okada M, Henney CS : Inhibition of in vitro cytotoxic responses by BCG-induced macrophage-like suppressor cells II. Suppression occurs at the level of a "helper" T cell. J. Immunol. 123: 350-356, 1979
- (46) Okada M, Klimpel GR, Kuppers RC, Henney CS: The differentiation of cytotoxic T cells in vitro. I. Amplifying factor (s) in the primary response is Lyt 1+ cell dependent. J. Immunol. 122: 2527-2535, 1979
- (47) Okada M, Kishimoto T, Igarashi T, Teranishi T, Yamamura Y: LPS- or 8 Bromo-cyclic AMP-induced production of T-cell activating factor (s) in macrophage tumor cell line J774.1. J. Immunol. 120: 1097-1101, 1978
- (48) Igarashi T, Okada M, Azuma I, Yamamura Y: Adjuvant activity of synthetic N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine and related compounds on cell-mediated cytotoxicity in syngeneic mice. Cell. Immunol. 34: 270-278, 1977
- (49) Igarashi T, Okada M, Kishimoto T, Yamamura Y : In vitro induction of polyclonal killer T cells with 2-mercapto-ethanol and the essential role of macrophages in this process. J. Immunol. 118: 1697-1703, 1977

〔知的財産権の取得及び申請状況〕

- (1) 岡田全司、大杉義征等、「キラーT細胞の誘導抑制剤」、出願番号:PCT-JP2006/322726、2006年11月15日
- (2) 岡田全司等、特許番号:特願2005-280379、提出日:2005年9月27日、発明の名称:DNAワクチン組成物
- (3) 岡田全司、高森靖、安井正文、「感染症治療剤 15K granulysin」WO 03/070268 A1、2002年。2008年特許取得。特許4149713号

〔研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)〕

- (1) 2004年WHO STOP TB Vaccine MeetingにおいてMemberとして、新しい結核ワクチンおよび新しい結核特異的診断法(QFT)の世界各国での取り組みの推進の提言を共同でWHOに対して行った。
2004年WHO STOP TB Partnershipに選出される。
- (2) 2009年WHO WGND(Working Group on New TB Drugs)メンバーに選出される。
2ヶ月に1回国際電話会議等を通じ世界に新しい結核治療法、結核治療剤について提言。
特に2009年8月5日WHO WGND国際電話会議で新しい結核治療ワクチンの前臨床試験結果に基づき臨床応用について提言。
- (3) 平成16年度厚生労働省労働科学研究費「結核菌症の病態解明に基づく治療法等の開発に関する研究」において、スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌の発見は厚生行政の多剤耐性結核患者の個室化を反映させた。
- (4) 岡田全司、小林信之、豊田恵美子、下内昭、加藤誠也、星野斉之 : 調査票(外国人結核及び入国者結核)作成。(2009年5月28日)
- (5) 坂谷光則、岡田全司、鈴木克洋、露口一成、金丸典子、豊田恵美子、西村一孝、村上一生、田尾義昭、松本智成: 結核新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価: 調査票(新しい結核治療剤使用)作成。(2009年11月11日)

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(平成20年度・21年度研究成果)

輸入感染症としての多剤耐性結核の
対策・制御に関する研究

研究代表者

岡田全司 (独) 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 研究の統括
臨床研究センター長

研究分担者

- I 日本における外国人結核
 - 小林信之 (国立医療センター)
 - 豊田寛子 (国立病院機構東京病院)
 - 下内 昭 (結核研究所 大阪市保健所)
 - 研究協力者 星野 日本全国の外国人結核
結核菌遺伝子型を比較
- II アジア諸国との結核菌遺伝子型研究と宿主要因解析(研究ネットワークを活用した)
 - 加藤誠也 (筑波大学)
 - 野内英樹 (東北大学)
 - 服部俊夫 (国際医療センター)
 - 藤原真人 (国際医療センター)
 - 接田幹策 (国際医療センター)
- III 新しい結核ワクチンと多剤耐性結核迅速診断法の開発
 - 坂谷光則 (国立病院機構近畿中央)
 - 竹田 薫 (大阪大学)
 - 研究協力者 中島、結核ワクチン安全性、
新しい結核治療ワクチン開発
- IV 先進国の外国人結核対策
 - 高尾浩夫夫 (大阪大学)

東日本(東京)の外国人結核実態把握と対策・制御
東日本(東京)の外国人結核
西日本(大阪、神戸)の外国人結核
研究協力者 尾崎、結核菌遺伝子解析、 藤山、神戸
タイの結核菌分子型を比較
中国の結核菌分子型
ベトナムの多剤耐性結核宿主要因
タイ・ベトナム
結核ワクチン開発と多剤耐性結核迅速入院法
新しい結核治療ワクチン開発
新しい結核ワクチン安全性、
輸木、露口、多剤耐性結核迅速入院法
イギリス・アメリカの外国人(移民)結核対策

研究目的

(意義)

- 近年、輸入感染症としての多剤耐性結核が問題。①日本国内への流入・蔓延防止 ②日本の外国人結核年々増加 ③費用莫大。治療困難。新結核ワクチン、治療薬必要。
- 多剤耐性結核の多発発症が日本・世界(特にアジア地域)で大問題。
- BCGは成人には無効。

(目的)

- 日本における外国人結核の発生と治療実態把握及び対策・制御による結核の日本国内への流入・蔓延防止。国立病院機構呼吸器ネットワーク・国際医療センター・保健所・結核の全国レベル研究(情報収集)で早期予防・治療ガイドライン作成の対策。
- アジア諸国との研究ネットワークを活用し、結核の分子疫学と宿主要因研究。外国人結核が多い(母国)中国・韓国の結核情報(日本の結核への影響)で日本への結核流入防止。
- 新しい結核予防ワクチン(BCGより1万倍強力なHsp65+IL-12DNAワクチン)で結核制御。
- 結核治療ワクチン、新化学療法剤の開発。アジアの多剤耐性結核、XDR-TB制御成果。スーパースプレッダー(S-S)多剤耐性結核対策。
- 多剤耐性結核迅速診断法・迅速入院法の開発。
- 先進諸国の移民結核対策の調査により、有効な移民結核対策・制御。

研究成果

(日本における外国人結核の対策・制御研究とアジア諸国の結核対策研究ネットワークの確立・活用による多剤耐性結核制御)



I. 日本の外国人結核

- 日本全国(調査票(外国人結核)作成、全保健所・病院800施設、7,935名、20代、中国・フィリピン・韓国、入国3年以内多い。多剤耐性3.4%日本人結核より多い(岡田)。労働者、学生。
- 東京:国際医療センター・東京病院。多剤耐性結核、耐性結核も多い。薬剤耐性の獲得は母国、特定の菌株蔓延(RFLP)。(小林、豊田)
- 大阪:学生が多く、集団感染。日本語学校の定時健診必要。大阪市流行株なし。母国で感染。(下内、岡田)

| ワカチ | ワカチ | ワカチ | ワカチ | ワカチ |
|---------------|--------|--------|--------|--------|
| BCG-391/91結核菌 | 結核菌 | 結核菌 | 結核菌 | 結核菌 |
| IS6110 | IS6110 | IS6110 | IS6110 | IS6110 |
| IS6110 | IS6110 | IS6110 | IS6110 | IS6110 |
| IS6110 | IS6110 | IS6110 | IS6110 | IS6110 |

II. アジア諸国

- 中国(加藤、服部、岡田、Ling)
 - 結核菌分子型疫学研究と宿主要因解析(ネットワーク研究)
 - ①アジアでの感染伝播状況の解析。3カ国(日本、中国、韓国)の分子型疫学共同研究会、VNTR/MST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”、上海、北京は“蔓延型”で、運送的な結核菌。韓国株(K strain)はRD181陽性で日本株とも分離可能の発見。中国株と日本株分離可能の発見。
 - ②ハルビンでS-S多剤耐性結核・遺伝子解析。中国からタイ移民にS-S多剤耐性結核発現。(服部、岡田) Granulysin低下。
- タイ(野内、藤田、Pathom)。難治性結核で

III. 新しい結核治療ワクチンの開発・迅速診断入院法の開発

- 多剤耐性結核の治療ワクチンHSP65 DNA+IL-12DNAを発見(サルで)。XDR-TBに治療薬。 (岡田、Tan)
- 100%生存率の予防効果。前臨床試験で免疫応答獲得(毒性・安全性試験)。臨床用のGMPレベル製造実施。結核ワクチンは結核治療効果(岡田)。リボソーム、SLPによる結核菌抑制機構解明(竹田)。
- Granulysin低下。
- (rpoB変異)多剤耐性結核の迅速入院法を構築。(岡田)

IV. 先進国の情報

- 少シにGPTI有用。(高尾、岡田)

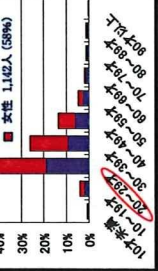
調査施設

| 送付 | 回答 |
|-------|----------|
| 527施設 | 432施設 |
| 54 | 38 |
| 219 | 114 |
| 800 | 584(73%) |

対象者

| 外国人結核 | 外国生まれ |
|--------|-------|
| 2,114件 | 347 |
| 274 | 274 |
| 2,735 | 2,735 |

(1) 外国人結核調査票による解析
(日本全国保健所と結核治療施設800施設)



来日年数

| 来日年月 | % |
|----------|------|
| 来日6~12ヶ月 | 12.5 |
| 来日1~3年以内 | 9.8 |
| 来日3~5年以内 | 23.6 |
| 5年以上 | 12.8 |

都道府県

| 都道府県 | % |
|------|------|
| 東京都 | 11.4 |
| 神奈川県 | 11.0 |
| 愛知県 | 9.2 |

職業

| 職業 | % |
|--------|------|
| 労働者 | 30.1 |
| 臨時雇・日雇 | 17.8 |
| 学生 | 12.6 |
| 接客業 | 10.1 |
| 主婦 | 13.4 |
| 無職 | 13.2 |

発見方法

| 発見方法 | % |
|-----------|------|
| 医療機関受診 | 71.0 |
| 定時健診(学生) | 5.1 |
| 定時健診(労働者) | 11.8 |
| 日本語学校健診 | 1.6 |
| 外国人を対象の検診 | 0.7 |

基礎疾患(合併症)

| | | |
|-----|-------|-----|
| なし | 74.7% | 4.4 |
| 糖尿病 | | 1.7 |
| HIV | | |

転帰

| | |
|---------|-------|
| 治療完了 | 74.3% |
| 継続中 | 5.4 |
| 病状 | 16.6 |
| 治療中断・失敗 | 34.6 |
| 死亡 | 2.3 |

言語障壁への対応

| | |
|---------|------|
| 行政サービス | 3.2% |
| ボランティア | 2.3 |
| 友人・知人 | 10.5 |
| 職場・学校など | 17.2 |

翻訳/パンフレットの有無

| | |
|--------|------|
| 英語 | 9.4% |
| 中国語 | 12.3 |
| 韓国語 | 1.8 |
| タガログ語 | 2.4 |
| ポルトガル語 | 1.4 |

薬剤耐性 (INH耐性+RFP耐性)

| | | |
|--------------|------|------|
| 日本人結核(相手先報告) | | |
| 外国人結核 | 8.4% | 5.9% |
| INH耐性 | 5.7 | 7.9 |
| SM耐性 | 3.9 | 2.4 |
| RFP耐性 | 3.9 | 2.4 |
| EB耐性 | 2.5 | |
| PZA耐性 | 0.5 | |
| LVFX耐性 | 48.6 | |
| なし | | 39.4 |
| 不明・未実施 | | |

医療上困難であった問題点と対応

- 言葉の問題
- 生活習慣のちがいが
- 食事の問題(宗教上)
- 不法滞在
- 経済的な問題

東京の外国人結核患者の臨床像と結核菌国外及び国内感染

国立国際医療センター

外国人結核患者 85名 (2007~2009年)

- 全TB患者の 8.4%
- 空洞 46.4%
- 治療中断例 減少
- DOTS徹底、通訳、パンフレットが治療・脱落防止に番

東京病院

外国人結核患者 64名 (2004~2009年)

- MDR-TB 6.3%、HIV 6.3%
- 日本人結核より多い
- 東京都では外国人結核患者の職業支援(通訳の派遣)

大阪市保健所 神戸市保健所

在留外国人結核 94名 (過去3年間)

- 学生が多い
- 大きな集団感染(学生)
- 日本語学校の定期健診必要
- 大阪市旅行株の型なし
- 母国で感染例多し
- 健診発見率上昇
- 転出者で帰国した患者対応が問題

就業状況別外国人結核患者数の年次推移

【発表】 結核発生動向調査より
四田全同、豊野孝之、Kekkaku 2010

東京の外国人結核菌の薬剤耐性・分子学的解析

外国人結核(東京)は多剤耐性結核菌多し

外国人結核の国内流行示唆

RFLP解析 70%以上のクラスター形成(2種のクラスター形成を発見)より特定の菌株蔓延示唆

| 薬剤耐性 | INH | RFP | SM | EB | LVFX |
|-----------------------|------------------|---------------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| 日本人 (1590株) | 5.4 | 0.8 | 8.2 | 0.8 | 0.5 |
| 外国人 (131株) | 6.1 | 3.1 | 8.8 | 1.5 | 0.8 |
| 性・年齢補正後オッズ比 (95%信頼区間) | 0.97 (0.44-2.12) | 6.34 (1.58-25.6)** | 0.73 (0.37-1.43) | 3.47 (0.6-20.1) | 1.00 (0.11-9.0) |
| 多剤耐性 | 0.4 | 2.3 | 7.31 (1.3-41.2)* | | |

*P<0.05 **P<0.01

外国人結核の国外感染示唆

入国後発症1~3年より、母国で感染例も多し

アジアでの感染伝播状況の解析

- 3カ国(中国、韓国、日本)の結核研究施設(結核研究所)が分子疫学共同研究
- 結核菌IS6110遺伝子とVNTR (Variable Number of Tandem Repeat)解析のMST (minimum spanning tree) 解析により
 - 日本・韓国の結核菌「祖先型(ancient型)」75~80%
 - 中国(上海、北京)、ロシアや欧米は「寛延型(modern型)」90%で結核菌の遺伝的背景が国により異なることを発見

北京型結核菌の系統発生樹

中国の結核菌と日本の結核菌の区分法

| | | | | |
|---------------|----|----|----|----|
| 国名(結核菌由来) | 日本 | 北京 | 香港 | 韓国 |
| 祖先型(ancient型) | 80 | 5 | 14 | 75 |
| 寛延型(modern型) | 20 | 95 | 86 | 25 |

前臨床試験 (安全性・毒性試験、GMPレベル製造)と臨床応用

HSP-65EL12遺伝子は1700のプラスミドで複製される

新規結核DNAワクチンの開発状況(まとめ) 岡田、中島

- 前臨床開発 (動物での有効性、安全性試験)
 - 有効性 (マウス、モルモット、サル、SOD/hu)
 - 安全性 (サル、ラット、GLP適合試験) 実証
 - 一般毒性試験
 - 安全性薬理試験、TK試験
- 製造関連 (非臨床、臨床試験用製造)
 - 長期安定性、加速試験、奇酷試験
 - 臨床用のGMP製造実績 a. 臨床応用のためにGMPレベルの製造を実施 b. 実験に臨床研究用に供給

HVJ-Eベクターの治験薬GMP製造技術・製剤化技術

- 製造工程は治験薬GMP製造対応
- バイオ医薬としての品質管理

臨床応用の申請用データパッケージを準備

- 臨床応用
 - フランス研究施設と臨床応用 HSP65DNA+IL-12DNAワクチン
 - WHO STOP TB Partnership会議で推奨された(2009年)
 - 臨床研究 (大阪大学病院) HVJ-Envelopeベクターは黒色腫に対し第I/II相試験

新しい結核治療ワクチン開発

Granulysinワクチンによる結核治療効果

HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンとの相乗効果

Granulysin +HSP65 +IL-12 DNA
Granulysin
HSP65 +IL-12 DNA (岡田 Vaccine 2009)

リポカリン2(Len2)とSLPIによる結核菌感染防御機構

SLPI, secretory leukocyte protease inhibitor (HIED, J. 2008a, J. 2008b)

新しい結核化学療法剤 Opc-67683 第II相臨床試験

ガフキ一陽性患者の喀痰の喀痰

結核菌PCR陽性

培養にて結核菌検出

ジェノスカラー・RIFTB

MGIT・小川による薬剤感受性

4~8週後

従来法による確認

RFP耐性であれば陰性個室へ隔離

1 RFP耐性 20人中 (rpoB遺伝子変異) 80%がINH耐性 (多剤耐性結核)

2 迅速入院した患者の86%は1週間以内に多剤耐性結核が確定

(鈴木、露口、岡田 Kekkaku, 2000)

IV. 先進国の外国人結核対策

先進国における輸入感染症としての結核対策の評価(高島毛)

イギリス(ロンドン)

ロンドンでは外国人結核 75%
イギリスでは外国人結核 64%

- 移民の結核問題の解決
- 入国前検診成功せず
- 入国後における移民のプライマリケアサービス
- 世界の結核対策の感染診断や治療支援投資
- 近い将来低蔓延国の日本の結核対策も同様に必要

米国(ニューヨーク)

ニューヨークでは外国人結核 76%
米国では外国人結核 57%

- 外来治療を中心
- ニューヨーク市のように低まん延状況となるにつれ、結核の専門施設を維持困難。既存の医療機関の中で結核患者に合わせた制度へと変更

米国(サンフランシスコ)

Dr. Masae Kawamura
サンフランシスコ
Public Health

調査(岡田)

ツベルクリン反応診断をQFT診断に変えてからサンフランシスコの移民結核が62%減少

サンフランシスコにおけるQFT診断法を活用した結核有病率の低下

ツバ反 2001-2003年, QFT 2005-2008年

| グループ | 2001-2003年 (%) | 2005-2008年 (%) |
|------------------|----------------|----------------|
| 移民 | 58 | 27 |
| ホームレス | 27 | 46 |
| 結核クリニック 医療従事者 | 40 | 40 |

行政施策への貢献

- 外国人結核対策のためのガイドライン作成による行政施策貢献。
- 日本の外国人結核の全国研究で早期予防、治療の対策。国立病院機構、国際医療センター、結核、保健所と外国人結核の輸入感染防止。
- アジア各国共通利用のVNTRシステム構築。結核菌が由来した国の同定。
- アジア諸国の分子疫学・宿主要因研究は日本への結核流入・蔓延防止の行政に寄与。
- 結核ワクチンと新薬開発は多剤耐性結核やXDR-TBの医療費節減・行政施策。国際貢献。
- S-S MDR-TBの発見は結核病室の個室化等、重要な厚生行政施策にすでに寄与した。

平成22年度研究計画

- 日本における外国人結核の診断 治療薬配把握。外国人結核対策・ガイドライン作成。
- 外国人結核の特定菌株が特定集団に蔓延を察知。
- 日本語学校、外国人雇用事業所で健診(QFT診断)、各国言語ハンズレット・服薬手帳。
- 外国人結核の最多国、中国・韓国と19VNTRでMST解析。日・中・韓 結核菌区分法。
- 新しい結核治療ワクチンの開発。ガフキイザル、XDR-TBを用いる。臨床応用を目指す。GLPLEベ
- ル安全性・毒性試験。GMP製造。Gra、リポカリン2、SLPIと相乗効果調査。
- ロサンゼルス市の外国人結核対策調査。

平成21年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究課題番号：H20-新興-一般-015研究代表者：倉根 一郎**I. 研究の意義**

- (1) 地球温暖化が感染症に及ぼす影響をモニタリングするための技術基盤は確立されていない。
- (2) モニタリング技術を国内及びアジア各国に導入するためのネットワークは確立されていない。
- (3) 地球温暖化が感染症に及ぼす影響を予測するためのシステム構築、影響予測はなされていない。
- (4) 地球温暖化の感染症への影響に対して防御策や、費用対効果は明らかにされていない。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 地球温暖化が、ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症に及ぼす影響をモニタリングするための技術基盤を確立する。
- (2) 確立したモニタリング技術を、国内及びアジア各国に導入するためのネットワークを確立する。
- (3) 技術移転により、地球温暖化が各種感染症に及ぼす影響をわが国及びアジア各国において予測するためのシステムを確立する。
- (4) 感染症へ温暖化影響に対して取るべき防御策を明らかにし、防御策を講ずることによる効果を明らかにする。

III. 2年間の研究成果

研究代表者（倉根一郎）

- ・地球温暖化が日本脳炎ウイルスの活動、分布域拡大、患者数に影響を及ぼすことを明らかにした。

研究分担者（小林睦生）

- ・地球温暖化がデング熱等を媒介するヒトスジシマカの分布域を拡大させることを明らかにした。

研究分担者（高崎智彦）

- ・デング熱 NS1 抗体測定法の有用性を確認した。発展途上国における患者数の把握が正確となる。

研究分担者（泉谷秀昌）

- ・海水中におけるビブリオ属菌等の遺伝子データバンクを作成し、定量的な把握の方法を確立した。

研究分担者（大前比呂思）

- ・ハマダラカ体内のマラリア原虫検出系を確立し、地球温暖化影響検出の基盤を整備した。

研究分担者（宮崎義継）

- ・簡便遺伝子検査系を確立し患者血清および環境中からヒストプラズマ遺伝子の検出に成功した。

研究分担者（江下優樹）

- ・アジア地域でのデング感染蚊の動態は、雨期の遅れが蚊の発生に影響することを確認した。

研究分担者（鈴木隆二）

- ・ダニ媒介性脳炎、日本脳炎特異的 T 細胞解析による新検査法開発の基盤を確立。

研究分担者（前田秋彦）

- ・デング熱、日本脳炎、ウエストナイル熱確定診断のための中空粒子を用いた抗体検査法を開発した。

研究分担者（我妻ゆき子）

- ・異常気象現象、降雨や温度の変動が下痢症発生に及ぼす影響解析の方法を確立した。

研究分担者（滝澤剛則）

- ・富山県における蚊属幼虫の標高ごとの変動を解析した。従来と相違がないことを確認した。

IV. 22年度の課題

- (1) ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症に及ぼす温暖化影響把握の技術基盤確立を継続。
- (2) 日本脳炎媒介蚊に対する温暖化影響評価の方法論の確立。
- (3) NS 1 抗原 ELISA 法と遺伝子検査 (PCR 法) の組み合わせたデング熱診断基準の確立。
- (4) 海水中のビブリオ属菌の定量的評価法の確立と技術移転。
- (5) 菌検出試験法とリアルタイム PCR を組み合わせた、ビブリオ属菌の調査法の検討。
- (6) ハマダラカ中のマラリア原虫の定量的検出法の確立と技術移転。
- (7) アニサキスなどの動物媒介性寄生虫症について気候変動影響の解析。
- (8) 真菌症患者発生地域で環境からの菌培養、遺伝子検出と技術移転。
- (9) アルボウイルス流行地における、の感染蚊の迅速モニタリングの現地への技術移転。
- (10) T 細胞レセプター解析を用いた感染の新規診断法の開発。
- (11) 中国・広東省における蚊媒介性感染症の温暖化影響調査。
- (12) バングラデシュにおける下痢性疾患流行予測モデルの開発と、その精度の検証。
- (13) アジアにおける下痢症発生データベースの構築と現地に於けるデータ解析。
- (14) 日本海側地域における環境変化の蚊類の垂直分布に及ぼす影響調査。
- (15) アジア数カ国における感染症地球温暖化ネットワーク作りの継続と技術移転。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症の温暖化影響把握のための環境モニタリング調査法のマニュアル作成。
- (2) 温暖化影響を国内及びアジア各国において予測するためのネットワークシステムの構築。
- (3) 温暖化による感染症影響に対する適応策策定のための科学基盤の提供。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) Hashizume M, Wagatsuma Y, Hayashi T, Saha SK, Streatfield K, Yunus M. The effect of temperature on mortality in rural Bangladesh--a population-based time-series study. Int J Epidemiol. In press 2009
- (2) Maeda, A., Murata, R., Akiyama, M., Takashima, I., Kariwa, H., Watanabe, T., Kurane, I., and Maeda, J. A PCR-based protocol for the generation of a recombinant West Nile virus. Virus Res., 144: 35-43, 2009
- (3) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. Inter. Med. In press 2009
- (4) Kurane, I., Kotaki, A. and Takasaki, T.: Vector-borne infectious diseases and climate change. Global Environmental Research. 12: 35-40, 2008.

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

研 究 成 果

感染症温暖化影響モニタリング技術開発研究

各種病原体
モニタリング技術開発

- ・ 日本脳炎ウイルスの活動と分布域拡大に対する温暖化影響確認
- ・ 海水中におけるビブリオ属菌等の遺伝子データバンクの作成と定量的な把握法確立
- ・ ハマダラカ体内のマラリア原虫検出系を確立、地球温暖化影響検出の基盤整備
- ・ 簡便遺伝子検査系を確立、患者血清や環境中からヒストプラズマ遺伝子を検出

ヒト感染検出新技術開発

- ・ デング熱検査として NS1 抗体測定の有有用性確認、発展途上国での患者数の把握
- ・ ダニ媒介性脳炎、日本脳炎特異的 T 細胞解析による新検査法開発の基盤確立
- ・ 中空粒子を用いた検査法開発

ベクターモニタリング
技術開発

- ・ 地球温暖化によるヒトスジシマカの分布域拡大を確認
- ・ 富山県における蚊属幼虫の標高ごとの変動を解析、従来と相違がないことを確認

温暖化影響ネットワーク構築・技術移転

アジアにおける温暖化
影響評価

- ・ 異常気象現象、降雨や温度の変動が下痢症発生に及ぼす影響解析の方法を確立

アジア温暖化研究ネットワーク確立

- ・ 中国広東省で蚊媒介性感染症の血清疫学・媒介蚊ウイルス保有状況についての調査実施

モニタリング技術移転

- ・ バングラデシュにおいて異常気象現象と下痢症発生の時系列分析

○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和 53 年 4 月 1 日 - 昭和 55 年 3 月 31 日 :
 東北大学医学部附属脳疾患研究施設 脳神経内科 研修医
 昭和 55 年 4 月 1 日 - 昭和 58 年 1 月 12 日 :
 東北大学歯学部口腔微生物学講座 医員
 昭和 58 年 1 月 12 日 - 昭和 60 年 4 月 30 日 :
 米国マサチューセッツ大学医学部 内科 感染症免疫学部門 講師
 昭和 60 年 5 月 1 日 - 平成 1 年 12 月 31 日 :
 米国マサチューセッツ大学医学部 内科 感染症免疫学部門 助教授
 平成 2 年 1 月 1 日 - 平成 7 年 5 月 31 日 :
 米国マサチューセッツ大学医学部 内科 感染症免疫学部門 准教授
 平成 7 年 6 月 1 日 - 平成 10 年 3 月 31 日 :
 近畿大学医学部 細菌学講座 教授
 平成 10 年 4 月 1 日 - 現在 :
 国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

指導者

東北大学医学部附属脳疾患研究施設 脳神経内科 板原克哉教授
 東北大学歯学部口腔微生物学講座 熊谷勝男教授
 米国マサチューセッツ大学医学部 内科 Francis A. Ennis 教授

主な共同研究者

神戸大学医学部医療基礎学 小西英二助教授

・主な研究課題

- ・ フラビウイルスに対する細胞性免疫応答とデング出血熱の病態形成機序に関する研究
- ・ フラビウイルス感染の新規検査法開発に関する研究
- ・ 気候変動の感染症への影響に関する研究

・これまでの研究実績

英文論文 298 編、和文論文 127 編

- 1) Lim, C.K., Nishibori, T., Ito, M., Kotaki, A., Tanaka, K., Kurane, I., and Talkasaki, T.: Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from Sri Lanka: isolation of two sub-strains different characteristics. Am. J. Trop Med Hyg. 81: 865-866, 2009
- 2) Moi, M.L., Lim, C.K., Takasaki, T., and Kurane, I.: Involvement of Fcγ Receptor II cytoplasmic domain in antibody dependent enhancement of dengue virus infection. Journal of General Virology In press 2009
- 3) Kurane, I., Kotaki, A. and Takasaki, T.: Vector-borne infectious diseases and climate change. Global Environmental Research. 12(1): 35-40, 2008.
- 4) Dewi, B.E., Takasaki, T. and Kurane, I.: Peripheral blood mononuclear cells increase the permeability of dengue virus-infected endothelial cells in association with downregulation of vascular endothelial cadherin. Journal of General Virology. 89(3): 642-652, 2008.
- 5) Pandey, B.D., Morita, K., Khanal, S.R., Takasaki, T., Miyazaki, I., Ogawa, T., Inoue, S. and Kurane, I.: Dengue virus, Nepal. Emerging Infectious Diseases. 14: 514-515, 2008.
- 6) Kurane, I.: Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 30(5-6):329-340. 2007
- 7) Oya, A. and Kurane, I.: Japanese encephalitis for a reference to international travelers. Journal of Travel Medicine. 14(4):259-268, 2007
- 7) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I.: Characterization of the variable region in the 3' non-translated region of dengue type 1 virus. Journal of General Virology. 88: 2214-2222, 2007

地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究 (H20-新興-一般-015)

研究代表者
倉根一郎

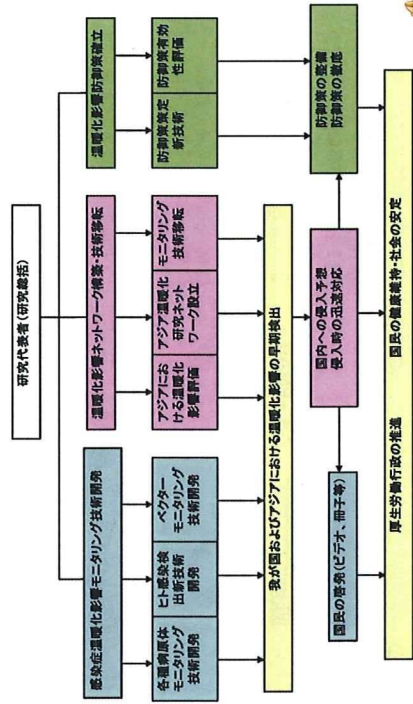
国立感染症研究所ウイルス第一部

研究の目的

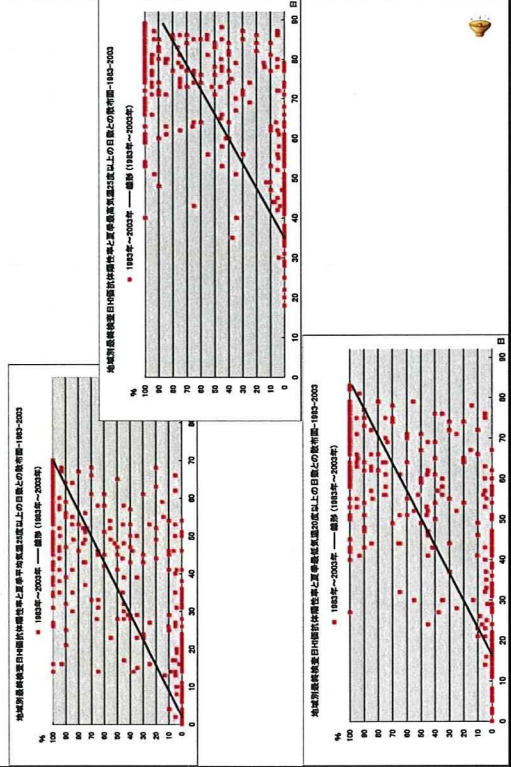
地球温暖化が感染症に及ぼす影響を早期に検出し、地球温暖化に伴う感染症の被害を防止するためのモニタリングのための基盤技術の確立を行なう。

- 1) 地球温暖化を伴う気候変動が、ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症に及ぼす影響をモニタリングするための技術基盤を確立する。
- 2) 確立したモニタリング技術を、わが国及びアジア各国に導入するためのネットワークを確立する。
- 3) 技術移転により、地球温暖化が各種感染症に及ぼす影響をわが国及びアジア各国において予測するためのシステムを構築し、影響予測を行う。
- 4) 感染症へ温暖化影響に対して取るべき防御策を明らかにし、防御策を講ずることによる効果を明らかにする。

研究組織



ブタの日本脳炎抗体陽転率は夏季の気温と相関する(倉根一郎)



平成 21 年度 インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：顧みられない病気に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-016

研究代表者：野崎 智義

I. 研究の意義、必要性

- (1) 顧みられない寄生虫症の病原・寄生・感染防御機構の解明等基盤的研究が不足
- (2) 国内の原虫・蠕虫症の全数把握等サーベイランスの構築が必要
- (3) 原虫・蠕虫の遺伝子鑑別法、寄生虫症の簡易血清診断キットの整備が不十分
- (4) 今後の寄生虫症の侵入に備えた診断ネットワークの構築と研究グループの育成が不可欠

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 赤痢アメーバ原虫の病原性・感染抵抗性・薬剤耐性の分子基盤の構築
- (2) アカントアメーバ・赤痢アメーバ・ジアルジア等のタイピング法・サーベイランスシステムの構築
- (3) 熱帯熱マラリア原虫の特異的脂質代謝とトキソプラズマの感染機構の解明
- (4) 糞線虫・回虫等の体内移行の機構の解明、糞線虫の排虫機構の解明
- (5) イヌ回虫等幼虫移行症・肺吸虫症・住血吸虫症などの簡易血清診断キットの確立・評価
- (6) アニサキス・異型吸虫等の遺伝子型別法の確立
- (7) エキノコックスの特異的呼吸鎖の解明と創薬への応用

III. 2年間の研究成果

- ・研究代表者 (野崎智義)
赤痢アメーバ国内分離株の高感度型別とトランスクリプトーム解析による病原性遺伝子同定
- ・研究分担者 (濱野真二郎) (注: pathogen-associated molecular pattern)
赤痢アメーバでの炎症性サイトカイン誘導 PAMP の存在、非病原性アメーバとの質的差異を証明
- ・研究分担者 (小林正規)
過去に集団感染が見られた 3 施設の追跡調査と株分離。フラジール単剤治療の低効果を指摘
- ・研究分担者 (八木田健司)
低コストと迅速性をもつラテックス凝集試薬を試作。キットに使用される単クローン抗体作成終了
- ・研究分担者 (井上幸次)
アカントアメーバ角膜炎の全国疫学データ・分離株を収集・解析する監視システムの構築を終了。アカントアメーバのミトコンドリア遺伝子型別法を確立。
- ・研究分担者 (三田村俊秀)
熱帯熱マラリア原虫の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の決定、遺伝子破壊原虫株の樹立
- ・研究分担者 (永宗喜三郎) (注: glycosylphosphatidylinositol)
トキソプラズマ感染に対する宿主 GPI の抑制的作用を解明
- ・研究分担者 (津久井久美子)
赤痢アメーバ薬剤メトロニダゾール耐性株の作成と多剤交叉耐性の発見
- ・研究分担者 (丸山治彦) (注: Expressed sequence tag)
ベネズエラ糞線虫のゲノム解析とブタ回虫の EST 解析により、感染型幼虫特異的遺伝子を有望な診断抗原として同定
- ・研究分担者 (中西憲司)
線虫感染に伴い活性化された好塩基球が、抗原提示細胞として Th2 細胞を誘導する機序を解明。Th2 細胞誘導機序の新しいパラダイムを構築
- ・研究分担者 (北 潔):
エキノコックス幼虫の呼吸系として NADH-フマル酸還元系が主に機能することを証明し、阻害剤キナゾリン系化合物を発見。複合体 I・II の調製、複合体 II の各サブユニットの分離・同定
- ・研究分担者 (山崎浩)
イヌ回虫プロテオグリカンに対する合成ペプチド・組換え抗原を用いたイムノクロマト検査キットを作成・比較検討し、組換え抗原キットの有用性を実証。裂頭条虫症の原因種の DNA 鑑別法を確立
- ・研究分担者 (杉山広)
肺吸虫 3 種の成虫分泌抗原を用いた診断キットを作製。アニサキス種の multiplex PCR 法を開発
- ・研究分担者 (森嶋泰之)
異形吸虫科吸虫 3 種を鑑別する multiplex PCR 法を開発
- ・研究分担者 (朝日博子)
日本住血吸虫感染者、感染既往者の尿・血清中の抗 tegument 抗体の陽性率・治療後消長を解析。組換え抗原の B 細胞エピトープ決定のためのペプチドライブラリー作製
- ・研究分担者 (千種雄一・大前比呂思)
住血吸虫 4 種類を鑑別する PCR 法を確立。虫卵抗原 ELISA 抗体価で住血吸虫症の臨床病型を区別

IV. 22 年度の課題

- (1) 赤痢アメーバの病原遺伝子の機能を証明。薬剤耐性をトランスクリプトーム解析で解明
- (2) 病原性・非病原性赤痢アメーバの PAMPs の同定と、その免疫応答、病態形成に果たす役割の解明
- (3) 赤痢アメーバ・アカントアメーバの発生動向調査、分離株の確保、型別・生物学的性状分析の継続

- (4) 熱帯熱マラリア原虫の脂肪酸不飽和化反応の赤血球サイクルにおける役割の解明
- (5) トキソプラズマの感染における宿主 GPI の役割の解明、トキソプラズマ感染耐性変異細胞の樹立
- (6) 同定されたベネズエラ糞線虫・ブタ回虫遺伝子の機能解析、診断抗原としての有用性の検討
- (7) 好塩基球の機能を制御することで、線虫感染に対する防御機能を変化出来るかを検討
- (8) エキノコックス NADH-フマル酸還元系の阻害剤スクリーニング、宿主哺乳類との相違点を解明
- (9) ジアルジア症・イヌ回虫症等幼虫移行症・肺吸虫症・アニサキス症の血清診断キットの評価。住血吸虫症の検査診断法マニュアル作成と、人工抗原・特異単抗体による住血吸虫症キットの作成・検証。
- (10) 裂頭条虫・アニサキス・異型・横川吸虫の multiplex PCR 鑑別法の対応種数・精度・確度の向上
- (11) 本研究班で開発・改良されたのキット・検査法について、従来の検査法や臨床所見との相関を確立、新規検査法の位置づけを明示。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 顧みられない原虫症・寄生虫症の検査診断キットの開発・普及・供給体制の構築
- (2) 検査・診断基準のガイドラインの作成
- (3) 腸管寄生虫症、アcantアメーバ角膜炎、蠕虫症などの寄生虫症の発生動向の把握
- (4) 寄生虫症の感染・寄生機構、免疫に関する幅広い知的基盤の整備
- (5) 国内の寄生虫研究グループ・研究者の育成
- (6) 国内外の研究グループとの連携の確立

VI. 本研究の成果 (研究期間における代表的な英文発表論文、各研究者 5 編以内)

(野崎 智義)

- Mi-ichi, F., Yousuf, M. A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2009) Mitosomes in *Entamoeba histolytica* contain a sulfate activation pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, in press.
- 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. (2009) Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine to the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Int. J. Antimicrobial Agents* in press.
- Escueta-de Cadiz, A., Kobayashi, S., Takeuchi, T., Tachibana, H., and Nozaki, T. (2010) Identification of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers. *Parasitol. Int.* in press.
- Sato, D., Yamagata, W., Harada, S., and Nozaki, T. (2008) Kinetic characterization of methionine gamma-lyases from the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* against physiological substrates and trifluoromethionine, a promising lead compound against amoebiasis. *FEBS J.* 275, 548-560.
- Picazarri, K., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2008) Autophagy during proliferation and encystation in the protozoan parasite *Entamoeba invadens*. *Inf. Immun.* 76, 278-288.
- (濱野 真二郎)
- Watanabe, K., Kishihara, K., Hamano, S., Koga, M., Nomoto, K., Tada, I.: *Strongyloides ratti*: implication of mast cell-mediated expulsion through Fc ϵ RI-independent mechanisms. *Parasite* 2009; 16: 209-214.
- Tetsutani, K., Ishiwata, K., Ishida, H., Tu, L., Torii, M., Hamano, S., Himeno, K., Hisaeda, H.: Concurrent infection with *Heligmosomoides polygyrus* suppresses anti-*Plasmodium yoelii* protection partially by induction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in mice. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39: 2822-2830.
- Hamano, S., Becker, S., Asgharpour, A., Ocasio, Y.P.R., Stroup, S.E., McDuffie, M., Houpt, E.: Gender and genetic control of resistance to intestinal amebiasis in inbred mice. *Genes Immun.* 2008; 9: 452-61.
- Hisaeda, H., Tetsutani, K., Imai, T., Moriya, C., Tu, L., Hamano, S., Duan, X., Chou, B., Ishida, H., Aramaki, A., Shen, J., Ishii, K.J., Coban, C., Akira, S., Takeda, K., Yasutomo, K., Torii, M., Himeno, K.: Malaria Parasites Require TLR9 Signaling for Immune Evasion by Activating Regulatory T Cells. *J. Immunol.* 2008; 180: 2496-2503.

(北 潔)

- Mogi, T., Ui, H., Shiomi, K., Ōmura, S., Miyoshi, H. and Kita, K. (2009) Antibiotics LL-Z1272 identified as novel inhibitors discriminating bacterial and mitochondrial quinol oxidases. *Biochim Biophys. Acta (Bioenergetics)* 1787, 129-133
- Morales, J., Mogi, T., Mineki, S., Takashima, E., Mineki, R., Hirawake, H., Sakamoto, K., Ōmura, S. and Kita, K. (2009) Novel mitochondrial complex II isolated from *Trypanosoma cruzi* is composed of twelve peptides including a heterodimeric lp subunit. *J. Biol. Chem.* 284, 7255-7263
- Osanai, A., Harada, S., Sakamoto, K., Shimizu, H., Inaoka, D. K., and Kita, K. (2009) Crystallization of mitochondrial rho-quinol-fumarate reductase from the parasitic nematode *Ascaris suum* with specific inhibitor, flutolanil. *Acta Crystallographica*, F65, 941-944
- Matsumoto J., Sakamoto K., Shinjyo N., Kido Y., Yamamoto N., Yagi K., Miyoshi H., Nonaka N., Katakura K., Kita K. and 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. (2008) *Antimicrob. Agents. Chemother.* 52, 164-170
- Inaoka, D. K., Sakamoto, K., Shimizu, H., Shiba T., Kurisu, G., Nara, T., Aoki, T., Kita, K. and Harada, S. (2008) Structures of *Trypanosoma cruzi* dihydroorotate dehydrogenase complexed with substrates and products: Atomic resolution insights into mechanisms of dihydroorotate oxidation and fumarate reduction. *Biochemistry* 47, 10881-10891
- (丸山 治彦)
- Enko K, Tada T, Ohgo KO, Nagase S, Nakamura K, Ohta K, Ichiba S, Ujike Y, Nawa Y, Maruyama H, Ohe T, Kusano KF. Fulminant eosinophilic myocarditis associated with visceral larva migrans caused by *Toxocara canis* infection. *Circ J.* 2009 Jul;73(7):1344-8.
- Yoshikawa M, Nishiofuku M, Moriya K, Ouji Y, Ishizaka S, Kasahara K, Mikasa K, Hirai T, Mizuno Y, Ogawa S, Nakamura T, Maruyama H, Akao N. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitol Int.* 2008 Dec;57(4):525-9.
- Chiyo Yamauchi-Kawaura, Hitomi Watanabe, Anna Nishimaki, Haruhiko Maruyama, Ayako Yoshida, and Nobuo Ohta (2008) 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* 49: 119-129.

(中西 憲司)

- Yoshimoto, T., Yasuda, K., Tanaka, H., Nakahira, M., Imai, Y., Fujimori, Y., Nakanishi, K. (2009) 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
- 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. (2009) Contribution of TIR domain-containing adapter inducing IFN- β -mediated IL-18 release to LPS-induced liver injury in mice. *J. Hepatol.*, 51, 333-341.
- Andoh, T., Kishi, H., Motoki, K., Nakanishi, K., Kuraishi, Y., and Muraguchi, A. (2008) Protective Effect of IL-18 on Kainate- and IL-1 β -Induced Cerebellar Ataxia in Mice. *J. Immunol.*, 180, 2322-2328.

- Kosaka, H., Yoshimoto, T., Yoshimoto, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. (2008) Interferon- γ is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation, *Nature Medicine*, 14,437-441
- Kondo, Y., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Futatsugi-Yumikura S., Morimoto, M., Hayashi, N., Hoshino, T., Fujimoto, J., Nakanishi, K. (2008) Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the absence of adaptive immune system. *Int. Immunol.*, 20, 791-800.
- 特許：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。発明者名：善本知広、中西憲司 権利者名：兵庫医科大学 出願番号：特願2008-281930 出願年月日：2008.10.31。
(小林正規)
- Escueta-de Cadiz A, Kobayashi S., Takeuchi T, Tachibana H, Nozaki T. Identification of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers. *Parasitol Int* 2009 in press.
- Sato D, Kobayashi S., Yasui H, et al. Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine against the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Int J Antimicrob Agents* 2009 in press.
- Suzuki, J., Kobayashi S., Iku, I., Murata, R., Yanagawa, Y. and Takeuchi, T. 2008. Seroprevalence of *Entamoeba histolytica* infection in female outpatients at a sexually transmitted disease sentinel clinic in Tokyo, Japan. *Jpn J Infect Dis* 61(3): 175-178
- Suzuki, J., Kobayashi S., Murata, R., Tajima, H., Hashizaki, F., Yanagawa, Y. and Takeuchi, T. 2008. A survey of amoebic infections and differentiation of an *Entamoeba histolytica*-like variant (JSK2004) in nonhuman primates by a multiplex polymerase chain reaction. *J Zoo Wildl Med* 39(3): 370-379.
(井上 幸次)
- Kakimaru-Hasegawa A, Kuo C-H, Komatsu N, Komatsu K, Miyazaki D, & Inoue Y. Clinical application of real-time polymerase chain reaction for diagnosis of herpetic diseases of the anterior segment of the eye. *Jpn J Ophthalmol* 52:24-31,2008.
- Higaki S, Inoue Y., Yoshida A, Maeda N, Watanabe H, & Shimomura Y. Case of bilateral multiple herpetic epithelial keratitis manifested as dendriform epithelial edema during primary Kaposi's varicelliform eruption. *Jpn J Ophthalmol* 52:127-129,2008.
- Miyazaki D, Tominaga T, Kakimaru-Hasegawa A, Nagata Y, Hasegawa J, & Inoue Y. Therapeutic effects of tacrolimus ointment for refractory ocular surface inflammatory diseases. *Ophthalmology* 115:988-992,2008.
- Komatsu K, Miyazaki D, Morohoshi K, Kuo C-H, Kakimaru-Hasegawa A, Komatsu N, Namba S, Haino M, Matsushima K, & Inoue Y. Pathogenesis of herpetic stromal keratitis in CCR5- and/or CXCR3-deficient mice. *Curr Eye Res* 33: 739-746,2008
(永宗喜三郎)
- Hirakawa, Y., Nagamune, K., and Ishida, K. "Protein targeting into secondary plastids of chlorarachniophytes." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2009, 106, 12820-5
- Nagamune, K., Xiong, L., Chini, E.N., and Sibley, L.D. "Plant, endosymbionts and parasites, Abscisic acid and calcium signaling." *Comm. Integ. Biol.* 2008, 1, 62-65
(津久井久美子)
- Nakada-Tsukui, K., Okada, H., Mitra, B. N., and Nozaki, T. (2009) Phosphatidylinositol-phosphates mediate cytoskeletal reorganization during phagocytosis via a unique modular protein consisting of RhoGEF/DH and FYVE domains in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.* 2009 11, 1471-1491.
- Picazarri, K., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2008) Autophagy during proliferation and encystation in the protozoan parasite *Entamoeba invadens*. *Inf. Immun.* 76, 278-288.
- Maralikova, B., Ali, V., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., van der Giezen, M., Henze, K., and Tovar, J. (2009) Bacterial-type oxygen detoxification and iron-sulphur cluster assembly in amoebal relict mitochondria *Cell. Microbiol.* in press.
(大前 比呂思)
- Ishikawa H, Ohmae H. Modelig the dynamics and control of transmissshion of *Schistosoma japonicum* and *S. mekongi* in Southeast Asia. *Korean J Parasitol.* 2009 47(1):1-5
- Saito-Nakano Y, Tanabe K, Kamei K, Iwagami M, Komaki-Yasuda K, Kawazu S, Kano S, Ohmae H., Endo T. Genetic evidence for *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine and Pyrimethamine in Indochina and the Western Pacific between 1984 and 1998. *Am J Trop Med Hyg.* 79(4);613-619, 2008
(朝日 博子)
- Asahi, H. Izumiyama, S, Tolba, M.E., Kwansa-Bentum, B, *Plasmodium falciparum*: Differing effects of nonesterified fatty acids and phospholipids on intraerythrocytic growth in serum-free medium. *Exp Parasitol*, 2009 (in press)
- Asahi, Hiroko. *Plasmodium falciparum*: Chemically defined medium for continuous intraerythrocytic growth using lipids and recombinant albumin. *Experimental Parasitology*, in press.
- Izumiyama, Shinji, Omura, Mako, Takasaki, Tomohiko, Ohmae, Hiroshi. Asahi, Hiroko. *Plasmodium falciparum*: Development and validation of a measure of intraerythrocytic growth using SYBR Green I in a flow cytometer. *Experimental Parasitology*, in press.
(山崎 浩)
- Sakai, H., Otsubo, S., Nakao, M., Yamasaki, H., Kagei, N., Iizuka, H. Multiple papules and nodules on the face and neck caused by the larvae of an unknown nematode: a non-creeping type eruption. *J. Am. Acad. Dermatol.* 58, 668-670, 2008
- Yamasaki, H., Nakao, M., Nakaya, K., Schantz, PM., Ito, A. Genetic analysis of *Echinococcus multilocularis* originating from a patient with alveolar echinococcosis occurring in Minnesota in 1977. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79, 245-247, 2008
- Nkouawa, A., Okamoto, M., Mabou, KA., Edinga, E., Yamasaki, H., Sako, Y., Nakao, M., Nakaya, K., Blair, D., Agatsuma, T., Enyong, P., Shibahara, T., Moyou-Somo, R., Ito, A. Paragonimiasis in Cameroon: molecular identification, serodiagnosis and clinical manifestations. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008 (in press).
(杉山 広)
- Singh, S.T., Sugiyama, H., Umehara, A., Hiese, S., Khato, K. *Paragonimus heterotremus* infection in Nagaland: a new focus of paragonimiasis in India. *Ind J Med Microbiol* 27, 123-127, 2009
- Madarame, H., Suzuki, H., Saitoh, Y., Tachibana, M., Habe, S., Uchida, A., Sugiyama, H. *Paragonimus miyazakii* ectopic infection in the subcutis showing a mass including worm cysts, egg granuloma and metazoal lymphadenitis. *Vet Pathol* 46, 945-948, 2009
- Sugiyama, H., Umehara, A., Morishima, Y., Yamasaki, H., Kawanaka, M. Detection of *Paragonimus metacercariae* in Japanese freshwater crabs, *Geothelphusa dehaani*, bought at retail fish markets in Japan. *Jpn J Inf Dis* 62, 324-325, 2009
- Singh, S.T., Khamo, V., Sugiyama, H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculoma: first case report in India. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 39 (Supplement 1), in press, 2009 Singh, T.S., Sugiyama, H., Umehara A., Hiese, S., Khato, K. *Paragonimus heterotremus* infection in Nagaland: a new focus of paragonimiasis in India. *Ind J Med Microbiol* 27, in press, 2009.
(森嶋 康之)
- Yu SH, Wang H, Wu XH, Ma X, Liu PY, Liu YF, Zhao YM, Morishima Y & Kawanaka M. Cystic and alveolar echinococcosis: an epidemiological survey in a Tibetan population in southeast Qinghai, China. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61, 242-246.

病原・防御機構の分子基盤の構築

| 寄生虫側病原機構の解明 | 宿主側防御機構の解明 |
|--|--|
| <p>赤痢アメーバ病原・薬剤耐性機構</p> <ul style="list-style-type: none"> 赤痢アメーバ臨床分離株の遺伝子型別終了(野崎) トランスクリプトーム解析による病原性遺伝子抽出(野崎) メトロニダゾール耐性株の確立・交叉耐性の解明(津久井) <p>マラリア原虫・トキソプラズマの代謝・感染機構</p> <ul style="list-style-type: none"> 脂肪酸脱飽和酵素の同定・ノックアウト作成(三田村) 宿主GPIの細胞侵入・増殖抑制作用の解明(永宗) <p>線虫の病原機構</p> <ul style="list-style-type: none"> ベネズエラ糞線虫のゲノム解析、ブタ回虫のEST解析により、幼虫移行症の診断候補遺伝子を同定(丸山) | <p>赤痢アメーバ症感染防御機構</p> <ul style="list-style-type: none"> 赤痢アメーバでの炎症性サイトカイン誘導PAMPの存在、非病原性アメーバと質的差異を証明(濱野) <p>線虫感染防御機構</p> <ul style="list-style-type: none"> 線虫感染に伴い活性化された好塩基球が、抗原提示細胞としてTh2細胞を誘導する機序を解明、Th2細胞誘導機序の新しいパラダイムを構築(中西) <p>エキノкокスの呼吸鎖の機能解析</p> <ul style="list-style-type: none"> 幼虫呼吸でのNADH-フマル酸還元系の存在を示し、阻害剤キナゾリン系化合物を発見(北) 複合体I・IIを調製、構成因子を分離(北) |

検査法・診断法の確立

| 血清診断法・キットの確立 | 寄生虫種同定・鑑別法の確立 |
|---|--|
| <p>幼虫移行症</p> <ul style="list-style-type: none"> イヌ回虫症のイムノクロマト法診断キットの作成 ペプチド・組換え抗原の比較・検討(山崎) <p>肺吸虫症</p> <ul style="list-style-type: none"> 肺吸虫3種の診断キットを作製(杉山) <p>日本住血吸虫症</p> <ul style="list-style-type: none"> 感染者の尿・血清中の各種抗体の陽性率・治療後消長等を解析 組換え抗原のB細胞エピトープ決定のためのペプチドライブラリー作製(朝日) 虫卵抗原ELISA抗体価で住血吸虫症の臨床病型を区別(大前) <p>ジアルジア症</p> <ul style="list-style-type: none"> 低コストと迅速性をもつラテックス凝集試薬を試作 キットに使用される単クローン抗体作成(八木田) | <p>裂頭条虫症</p> <ul style="list-style-type: none"> 6種類の裂頭条虫の型別法を確立(山崎) <p>アニサキス症</p> <ul style="list-style-type: none"> マルチプレックスPCRによるアニサキス迅速鑑別法を確立(杉山) <p>異型吸虫症</p> <ul style="list-style-type: none"> 異型吸虫属3種を鑑別するマルチプレックスPCR法を確立(森嶋) <p>住血吸虫症</p> <ul style="list-style-type: none"> 住血吸虫4種類を鑑別できるPCR法を確立(千種) <p>赤痢アメーバ症・ジアルジア症</p> <ul style="list-style-type: none"> 赤痢アメーバ・ジアルジアの遺伝子型別法を確立(野崎・八木田) <p>アカントアメーバ角膜炎</p> <ul style="list-style-type: none"> アカントアメーバのミトコンドリア遺伝子型別法を確立(八木田) |

寄生虫症発生動向の調査

| |
|--|
| <p>赤痢アメーバ症</p> <ul style="list-style-type: none"> 知的障害者施設の追跡調査により、再感染を確認、分離株を確保(小林) <p>アカントアメーバ角膜炎</p> <ul style="list-style-type: none"> 全国9カ所の拠点施設を設定、監視システムを構築終了(井上) アカントアメーバ角膜炎のアンケート調査開始(井上) <p>幼虫移行症・肺吸虫</p> <ul style="list-style-type: none"> 依頼検体を調査し、内臓幼虫移行症と肺吸虫症の国内における発生動向を分析(丸山) |
|--|

○研究代表者の研究概要等

・過去に所属した研究機関の履歴

S62-H11 慶応大学助手、H11-H16 国立感染症研究所寄生動物部室長、H17-H20.6、群馬大学国際寄生虫病生態学教授、H20.7より現職。留学歴：H1-7NIH、NIH並びにRockefeller U。H11-現在、大阪バイオサイエンス研究所特別研究員；H11-現在、慶応大学非常勤講師；H21.9-現在筑波大学大学院生命環境科学研究科教授併人、H13-現在、薬事・食品衛生審議会専門委員、H13-17、科学技術振興事業団さきがけ21(PRESTO)「生体と制御」領域研究員；H18-現在、日本寄生虫学会学術担当理事；H19-現在、日米医学協力研究会・寄生虫疾患専門部会パネルメンバー。

・主な共同研究者（又は指導を受けた研究者）

曾我朋義・佐藤暖（慶応大学）、原田繁春（京都工繊大）、柴田哲男（名古屋工大）、James A. Dvorak (NIH)、George A. M. Cross (Rockefeller U)、William A. Petri Jr. (U Virginia)、Sandipan Ganguly (NICED, Kolkata)。

・主な研究課題

赤痢アメーバの病原機構の解明、原虫特異的含硫アミノ酸代謝解明と創薬、原虫症の"omics"研究。

・これまでの研究実績

査読のある英文論文数(83、うち総説7)、著書(2)；受賞数(3)；特許数(3)；寄与した指針ガイドライン等(2)；以下過去3年分から関連論文のみ抜粋

- Mi-ichi, F., Yousuf, M. A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2009) Mitosomes in *Entamoeba histolytica* contain a sulfate activation pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press.
- Maralikova, B., Ali, V., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., van der Giezen, M., Henze, K., and Tovar, J. (2009) Bacterial-type oxygen detoxification and iron-sulphur cluster assembly in amoebal relict mitochondria. *Cell. Microbiol.* in press.
- 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. (2009) Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine to the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Int. J. Antimicrobial Agents* in press.
- Sato, D. and Nozaki, T. (2009) Methionine gamma-lyase: the unique reaction mechanism, physiological roles, and therapeutic applications against infectious diseases and cancers. *IUBMB Life*, in press.
- Nakada-Tsukui, K., Okada, H., Mitra, B. N., and Nozaki, T. (2009) Phosphatidylinositol-phosphates mediate cytoskeletal reorganization during phagocytosis via a unique modular protein consisting of RhoGEF/DH and FYVE domains in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.* 2009 11, 1471-1491.
- Escueta-de Cadiz, A., Kobayashi, S., Takeuchi, T., Tachibana, H., and Nozaki, T. (2010) Identification of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers. *Parasitol. Int.* in press.
- Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., Ali, V., and Nozaki, T. (2010) Characterization of two isotypes of L-threonine dehydratase from *Entamoeba histolytica*. *Mol. Biochem. Parasitol.* in press.
- Ghosh, E., Ghosh, A., Ghosh, A. N., Nozaki, T., and Ganguly, S. (2009) Oxidative stress-induced cell cycle blockage and a protease-independent programmed cell death in microaerophilic *Giardia lamblia*. *Drug Design, Development and Therapy* 3, 103-110.
- Sato, D., Yamagata, W., Harada, S., and Nozaki, T. (2008) Kinetic characterization of methionine gamma-lyases from the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* against physiological substrates and trifluoromethionine, a promising lead compound against amoebiasis. *FEBS J.* 275, 548-560.
- Sato, D., Karaki, T., Shimizu, A., Kamei, K., Harada, S., and Nozaki, T. (2008) Crystallization and preliminary X-ray analysis of L-methionine gamma-lyase 1 from *Entamoeba histolytica*. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 64, 697-699, 2008.
- Picazari, K., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2008) Autophagy during proliferation and encystation in the protozoan parasite *Entamoeba invadens*. *Inf. Immun.* 76, 278-288.
- Ebert, F., Bachmann, A., Nakada-Tsukui, K., Hennings, I., Drescher, B., Nozaki, T., Tannich, E., and Bruchhaus, I. (2008) An *Entamoeba* cysteine peptidase specifically expressed during encystation. *Parasitol. Int.* 57, 521-524.
- Hussain, S., Ali, V., Jeelani, G., and Nozaki, T. (2008) Isoform-dependent feedback regulation of serine O-acetyltransferase isoenzymes involved in L-cysteine biosynthesis of *Entamoeba histolytica*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 163, 39-47.
- Picazari, K., Nakada-Tsukui, K., Sato, D., and Nozaki, T. (2008) Analysis of autophagy in the enteric protozoan parasite *Entamoeba*. *Methods Enzymol.* 451, 359-37176.
- Wong, E., Okhonin, V., Berezovski, M., Nozaki, T., Alexandrov, K., and Krylov, S. (2008) Inject-mix-react-separate-and-quantitate method for High-throughput screening of enzyme inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* 130, 11862-11863.
- 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.
- Mitra, B. N., Saito-Nakano, Y., Nakada-Tsukui, K., Sato, D., and Nozaki, T. (2007) Rab11B small GTPase regulates secretion of cysteine proteases in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.* 9, 2112-2125.
- Saito-Nakano, Y., Mitra, B. N., Nakada-Tsukui, K., Sato, D., and Nozaki, T. (2007) Two Rab7 isotypes, EhRab7A and EhRab7B, play distinct roles in biogenesis of lysosomes and phagosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.* 9, 1796-1808.
- Ali, V. and Nozaki, T. (2007) Current therapeutics, their problems, and sulfur-containing amino acid metabolism as a novel target against infections by "amitochondriate" protozoan parasites. *Clin. Microbiol. Rev.* 20, 164-187.
- Sato, D., Yamagata, W., Kamei, K., Nozaki, T. and Harada, S. (2006) Expression, purification, and crystallization of L-methionine gamma-lyase 2 from *Entamoeba histolytica*. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 62, 1034-1036.
- Sato, D., Nakada-Tsukui, K., Okada, M., and Nozaki, T. (2006) Two cysteine protease inhibitors, EhICP1 and 2, localized in distinct compartments, negatively regulate secretion in *Entamoeba histolytica*. *FEBS Lett.* 580, 5306-5312.
- Gilchrist, C. A., Houghton, E., Trapaidze, N., Fei, Z., Crasta, O., Asgharpour, A., Evans, C., Martino-Catt, S., Baba, D. J., Stroup, S., Hamano, S., Ehrenkaufer, G., Okada, M., Singh, U., Nozaki, T., Mann, B. J., Petri, Jr., W. (2006) Impact of intestinal colonization and invasion on the *Entamoeba histolytica* transcriptome. *Mol. Biochem. Parasitol.* 147, 163-176.
- Nozaki, T. and Nakada-Tsukui, K. (2006) Membrane trafficking as a virulence mechanism of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. (review) *Parasitol. Res.* 98, 179-183.