

201028016A

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

# 顧みられない病気に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野 崎 智 義

(国立感染症研究所)

平成23 (2011) 年 3 月

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

# 顧みられない病気に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野 崎 智 義

(国立感染症研究所)

平成23 (2011) 年 3 月

## 目次

I. 総括研究報告	
顧みられない病気に関する研究 -----	1
野崎 智義 (国立感染症研究所 寄生動物部)	
II. 分担研究報告	
1. 赤痢アメーバの病原性遺伝子の同定と病原機構の解明 -----	21
野崎 智義 (国立感染症研究所 寄生動物部)	
2. 赤痢アメーバ症の感染防御機構の解明 -----	29
濱野 真二郎 (長崎大学 熱帯医学研究所寄生虫学分野)	
3. 熱帯熱マラリア原虫の脂質代謝・輸送の分子機構の解明 -----	35
三田村 俊秀 (国立国際医療センター 研究所)	
4. トキソプラズマの細胞侵入機構の解明 -----	37
永宗 喜三郎 (国立感染症研究所 寄生動物部三室)	
5. 赤痢アメーバ等腸管原虫症の薬剤耐性に係る研究 -----	41
津久井 久美子 (国立感染症研究所 寄生動物部一室)	
6. 蠕虫遺伝子発現制御機構の解明、及び寄生虫症診断法の開発 -----	45
丸山 治彦 (宮崎大学医学部 感染症学講座寄生虫学分野)	
7. エキノコックスミトコンドリア呼吸鎖の機能解明と創薬 -----	51
北 潔 (東京大学大学院医学研究科)	
8. 蠕虫の腸管感染排除機構の解明 -----	57
中西 憲司 (兵庫医科大学 免疫学医動物学)	
9. アカントアメーバ角膜炎の疫学的研究 -----	61
井上 幸次 (鳥取大学医学部 感覚運動医学講座視覚病態学分野)	
10. 寄生原虫症の検査診断法開発 -----	65
八木田 健司 (国立感染症研究所 寄生動物部一室)	
11. 寄生蠕虫症の病態と検査診断結果に関する解析 -----	73
大前 比呂思 (国立感染症研究所 寄生動物部三室)	
12. 住血吸虫症の血清診断キット開発・評価 -----	79
朝日 博子 (国立感染症研究所 寄生動物部三室)	
13. 寄生蠕虫症(条虫症)の検査診断法開発 -----	85
山崎 浩 (国立感染症研究所 寄生動物部二室)	
14. 食品媒介性吸虫症の検査診断法開発 -----	93
杉山 広 (国立感染症研究所 寄生動物部二室)	
15. 腸管寄生吸虫症の遺伝子診断法開発 -----	99
森嶋 康之 (国立感染症研究所 寄生動物部二室)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	101
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	111

# I. 総括研究報告書

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

顧みられない病気に関する研究

研究代表者 野崎 智義 国立感染症研究所 部長

研究要旨 顧みられない寄生原虫・蠕虫症のコントロールには、診断法・サーベイランスの確立、薬剤・ワクチン等予防・治療法の開発、感染症対策マニュアルの策定が重要である。更には、そのためには、起因生物の生物学・病因学的理解が不可欠である。本研究では研究班を大きく3つに分け、顧みられない寄生虫症対策に資する研究を展開した。3年次、第1グループでは、国内のアカントアメーバ角膜炎のサーベイランス・分子疫学を展開した。第2グループでは基盤的研究を行った。原虫症としては、赤痢アメーバ、トキソプラズマ、マラリア原虫を、蠕虫症としては、糞線虫、エキノコックス等の病因学・感染防御機構の解明等を行った。第3のグループでは、診断法・鑑別法の開発を行い、原虫症としてジアルジア症の、蠕虫症として、住血吸虫・肺吸虫等の吸虫症、トキソカラ症、アニサキス症など線虫症、条虫症等の診断法の確立を目指した。最終年度は3つの研究分野いずれでも、各分担研究分野において成果を挙げ、顧みられない寄生虫症の病因・感染防御の解明、検査診断法・サーベイランス体制の構築に重要な貢献を果たした。

研究分担者

濱野 真二郎・長崎大学・教授  
三田村秀俊・国立国際医療センター研究所・室長  
永宗 喜三郎・国立感染症研究所・主任研究官  
井上 幸次・鳥取大学・教授  
八木田 健司・国立感染症研究者・主任研究官  
津久井久美子・国立感染症研究所・主任研究官  
丸山 治彦・宮崎大学・教授  
北 潔・東京大学・教授  
中西 憲司・兵庫医大・教授  
大前 比呂思・国立感染症研究者・室長  
朝日 博子・国立感染症研究者・主任研究官  
山崎 浩・国立感染症研究者・室長  
杉山 広・国立感染症研究者・主任研究官  
森嶋 康之・国立感染症研究者・主任研究官

A. 研究目的

顧みられない寄生虫症の克服には、サーベイランス、診断法の開発・確立、薬剤・

ワクチン等予防・治療法の開発、並びに、対策マニュアルの策定が重要である。同時に以上の目的を達成するには、病原体の病因・生物学を理解することが重要である。本研究は、顧みられない原虫・寄生虫のうち、代表的な疾患を広く対象として、研究基盤のボトムアップを図っている。また、次世代の研究者・グループの育成を目的として、比較的若い准教授クラスの研究者を多く班員としている。

本研究班は、大きく3つの研究グループに分ける。第1研究グループはサーベイランス・分子疫学手法を用いて、アカントアメーバ角膜炎のモニタリングを継続した。第2グループは病因学・感染防御の基盤解明を目指すグループで、代表的な原虫症・蠕虫症、具体的には、赤痢アメーバ、トキソプラズマ、マラリア原虫、糞線虫、エキノコックスを対象として基礎研究を展開した。第3グループでは、ジアルジア症、アカントアメーバ症、住血吸虫・肺吸虫・異型吸虫等吸虫、幼虫移行症等線虫症、条虫症の診断を確立し、診断法の標準化を図った。或は、これらの診断法の確立を目指した研究を展開した。

## B. 研究方法

### 1. 赤痢アメーバの病原・分化機構の解明のための技術基盤の開発と分化決定遺伝子の同定

嚢子化過程を解析する逆遺伝学的手法を作成するため、*Entamoeba invadens* の形質転換系をリポフェクションにより至適化を行った。薬剤選択マーカーを選択した。2年次のDNAマイクロアレイを用いた嚢子化過程の経時的発現プロファイリングの再現性の確認を行い、時特異的転写因子を同定した。

### 2. 赤痢アメーバ症の感染防御機構の解明

5系統の近交系マウス(CBA/J, C3H/HeN, C3H/HeJ, C57BL/6, BALB/c)の虫垂に以下の3種のヒト寄生性アメーバ(*E. histolytica*, *E. moshkovskii*, *E. dispar*)栄養体を接種した。各アメーバのマウス腸管への定着能を調べると共に、下痢原性、体重の変化、原虫の感染動態、ならびに赤痢アメーバ特異的なIgG, IgAの動態を測定・観察した。また各種遺伝子欠損マウスのCBA/Jバックグラウンドへの戻し交配をさらに進めた。

### 3. 熱帯熱マラリア原虫の脂質代謝・輸送の分子機構の解明

熱帯熱マラリア原虫Des9の本体をコードしていることを明らかにした遺伝子座(PFE0555w)と高いシンテニーを示すP. berghei PBANKA\_111070遺伝子座のノックアウトクローン株(PbDes9 KO)を常法に従い取得した。更に、感染マウス内での赤内型の増殖、感染マウスを吸血させた感染ハマダラ蚊内でのオーシストの形成能、感染ハマダラ蚊から調製したスポロゾイトのマウスへの感染能について、親株とPbDes9 KOで比較した。

### 4. トキソプラズマの細胞侵入機構の解明

GPIアンカーの生合成に関与する遺伝子に変異を有する2種類の変異CHO細胞(M2S2及びGaa1(-))に対する感染性を野生株と比較した。更に感染性の差を詳細に検討するため、野生株及びこれらの変異株における原虫の侵入能及び宿主細胞内にお

ける増殖、さらに原虫によるミトコンドリアのリクルート能、およびevacuole形成能を詳細に検討した。

### 5. アカントアメーバ角膜炎の疫学的研究

全国9施設を拠点として、アカントアメーバ角膜炎より分離されたアメーバ株を国立感染症研究所に集積し、分子疫学的解析を行った。分離株はクローニング後、18SrRNA遺伝子のシークエンス解析を行い、BLAST検索による既存アメーバとの相同性を調べ、Tタイピングによる分類を行った。アカントアメーバクローン株の研究資源化を目的に、無菌栄養液体培地(PYGCあるいはCGVS)での無菌培養株樹立を行った。全国6施設において感染性角膜炎患者より供与されたCLケースと環境サンプルについて分子疫学的解析を行った。

### 6. ジアルジア症迅速診断キット開発に向けた抗ジアルジアモノクロナル抗体の作製

精製モノクロ抗体(4B5, 4G1ならびに3H4-7)を蛍光色素Alexa488(invitrogen)で標識後、カラム精製により標識抗体を調整した。フローサイトメトリー、抗原捕捉ELISA系の作成、抗体の固相化、ELISAは常法に従った。検査試料はヒト或はジアルジア由来のシストを用いた。

### 7. 赤痢アメーバのメタロニダゾール耐性のトランスクリプトーム解析

赤痢アメーバ株(HM1:cl6)を0.5 $\mu$ Mメタロニダゾール存在下培養し、徐々に薬剤濃度を上げることで、IC50=8 $\mu$ Mのメタロニダゾール耐性株を得た。続いて親株、薬剤存在下で培養した耐性株(耐性株+)、7日間薬剤非存在下で培養した耐性株(耐性株-)、の3種類のサンプルについてトランスクリプトーム解析を行った。更に、高濃度のメタロニダゾール耐性株の樹立するプロトコルを至適化した。

### 8. 蠕虫遺伝子発現制御機構の解明、及び寄生虫症診断法の開発

ベネズエラ糞線虫の虫卵、感染幼虫、体内移行期幼虫(肺から回収)および成虫か

ら cDNA を調製し、GS-FLX Titanium によって塩基配列を決定、Newbler v. 2.3 を用いてアセンブルした。得られた isotig データセットを用いて他種線虫 (*Caenorhabditis elegans*, *Brugia malayi*) とハエ *Drosophila melanogaster* のタンパク質、そして線虫 EST の統合データベース NEMABASE4 に対して megablast を実施した。発現量の違いは、各 isotig にマップされるリード数によって推測した。astacin-like zinc-metalloprotease については、多種類の類似した配列がトランスクリプトーム中に見出されたため、PCR 産物をサンガー法によって塩基配列を決定した。

幼虫移行症血清診断への応用のため、ブタ回虫組換え抗原を作製した。ブタ回虫の虫卵をウサギに投与し、感染 5-6 日後にウサギ肺から幼虫を回収し、cDNA ライブラリを作製した。成虫や虫卵では発現の報告がないものを診断用抗原の候補とした。As16 がもっとも有望であったので、以下の実験には As16 をもちいた。イヌ回虫の組換え抗原は、本研究班の分担研究者山崎浩博士から TES32 の供与を受けた。また、糞線虫に関しては抗体検査に有用であるとの報告がある L3Nie 抗原をベネズエラ糞線虫の感染幼虫ライブラリからクローニングして組換えタンパク質とした。

#### 9. エキノコックスの嫌氣的呼吸鎖の生理機能の解明

条虫類に属するエキノコックスは同じく寄生蠕虫に属する線虫類の回虫と同様に腸管寄生虫であり、その生活環から考えて、低酸素の環境下に嫌氣的呼吸鎖を利用している可能性があると予想された。エキノコックス複合体の特徴を調べる目的でミトコンドリアより複合体 II の精製を試み、各サブユニットの N 末端解析および PCR を用いたホモロジープロビングから全てのサブユニットおよび複合体 II の生合成に関わるアセンブリーファクターの cDNA のクローニングを行なった。

#### 10. 蠕虫の腸管感染排除機構の解明

好塩基球欠損マウスは正常マウスに抗

FcεR1α 抗体(MAR-1)を投与し、好塩基球を除去し作成した。あるいは、好塩基球特異的 Diphtheria toxin(DT) receptor 発現マウス(Bas-TRECK)に DT を投与し、好塩基球を除去した。

*Strongyloides venezuelensis*(Sv)排虫実験では、Sv の 3 型幼虫を経皮感染させたマウスから糞便を連日採取した。Th2 型免疫応答誘導に対する好塩基球の影響は、感染 7 日目のマウスの腸間膜リンパ節細胞を採取し、抗 CD3/抗 CD28 抗体で刺激をして細胞内 IFNγ/IL-4 を染色して FACS で調べた。Sv 感染前後の血清を経時的に採取し、血清中 IgE と粘膜型肥満細胞マーカー mMCP-1 の値を ELISA にて測定した。

#### 11. 寄生蠕虫症の病態と検査診断結果に関する解析

メコン住血吸虫症の調査では、2010 年 4 ~5 月にカンボジア、Kratie 省にて血清検査および糞便検査を実施した。免疫血清検査は 6 村落の小学校児童を検査対象とした。合計 645 人から採取した。メコン住血吸虫卵抗原を用いた SMP-ELISA をおこなった。また、2006 年から 2010 年にかけてラオスの Van Vieng 地域を旅行した 13 人のイスラエル人旅行者の保存血清も用いた。フィリピンでの日本住血吸虫症の調査では、2006~2008 年の疫学調査で、腹部超音波検査で進んだ肝線維化を示した例を対象とし、日本住血吸虫の虫卵抗原による通常の ELISA 検査を行った。

#### 12. 住血吸虫症の血清診断キット開発・評価

成虫体の tegument に存在する 22.6kDa タンパク成分(SJT226)のレコンビナントタンパク(rSJT226)を導入して、尿および血清中の特異抗体との反応性を調べた。さらに当該タンパクのアミノ酸配列に基づいてペプチドライブラリーを作製し、特異的モノクローナル抗体(SJA111 mAb)、感染マウス血清、感染者血清および尿中抗体と反応する B-cell epitope を決定した。決定した B-cell epitope を含む人工合成抗原を作製して、免疫診断法(ELISA および ICT)に導入し

て有用性を確認した。

### 13. 寄生蠕虫症(条虫症)の検査診断法開発

陽性対照としてブラジル人のトキソカラ症患者血清(50検体)を用いた。さらに、宮崎大学医学部においてトキソカラ症、あるいはブタ回虫による幼虫移行症と診断された血清(38検体)も用いた。マンソン弧虫PBS抽出抗原と精製されたパラミオシン(以下、PM抗原)とシステインプロテアーゼ(以下、CP抗原)を使用した。ICTキット作成に先立ち、マンソン弧虫症、顎口虫症血清を用いて3種類の抗原に対する反応性をELISAで比較検討した。ELISAで種特異性が高いと判断された抗原についてはICTキットを試作し、特異性を検討した。

依頼検査目的で送付されてくる臨床検体(虫体や病理組織標本)を用いてcox1遺伝子の塩基配列解析を行った。また、ホルマリン固定病理組織標本中に検出される寄生虫の鑑別法については、プライマー領域の設定などPCR条件を詳細に検討した。

### 14. 食品媒介性吸虫症の検査診断法開発

日本海産と東シナ海産のサバからアニサキスを用いた。リボソームDNAのITS領域を標的としたRFLP解析と塩基配列を行った。交雑種とされた虫体については、cox1遺伝子を標的に上記を行った。プライマーを設計・作製し、特異性を検討した。肺吸虫症診断キットの作成では、成虫からのES抗原を使用した。供試血清は感染研への依頼検査により診断を実施した検体で、原因虫種を確定した検体を用いた。ヒロクチ肺吸虫ES抗原の調整は既存の方法に従った。キットの評価は供試血清を用いた反応の後、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強陽性、陽性、弱陽性、陰性の4段階に分け、供試血清の反応を表現した。得られた成績をmicro-ELISAで得た成績と比較した。

### 15. 腸管寄生吸虫症の遺伝子診断法開発

本研究に用いた臨床検体124例は、いずれも一般の健康診断あるいは人間ドック受

診時の検査においてメタゴニムス属吸虫卵陽性と判定された関東地方南部居住者に由来する糞便である。検出虫卵数等の具体的な情報はなかったため、受領後0.5gを用いてホルマリンエーテル法による再検査を行い、虫卵の含有状況を確認してから以後の検討に用いた。

検体からの寄生虫DNAの抽出は、QIAamp DNA Stool Mini Kitを用いて行い、cox1領域を標的としたマルチプレックスPCR法による鑑別を行った。

(倫理面への配慮)本研究に関わるDNA組換え実験、動物実験、RI実験等に係る承認は当該研究機関にて得られている。ヒト臨床検体を用いた研究に関しては各研究機関の倫理審査を受けており、連結不可能匿名化されたものを用いた。

## C. 研究結果

### 1. 赤痢アメーバの病原・分化機構の解明のための技術基盤の開発と分化決定遺伝子の同定

Lipofectamineを用いたEntamoeba invadensの形質転換系を確立した。転写プロモーターとしてアクチン、システイン合成酵素が高い活性を有することが発見された。薬剤選択マーカーとしてネオマイシン、プロマイシンを選択した。16種のR2/R3 Mybと7種のT/SHAQKYF Myb転写因子の中から嚢子化の時期特異的に転写されるMyb転写因子が同定された。

### 2. 赤痢アメーバ症の感染防御機構の解明

宿主が赤痢アメーバを認識するメカニズムを解明し、さらにはその認識が感染病態や防御に果たす役割を個体レベルで明らかにすることを目的にした。ヒトに対する病原性が未確定のE. moshkovskiiは、病原性E. histolyticaと同様CBA/JやC3H/HeN、C3H/HeJマウスの腸管に定着できた。E. histolyticaは中程度の炎症を惹起して慢性感染に移行したのに対して、E. moshkovskiiは下痢症状に加えて典型的なイチゴゼリー状の粘血便を引き起こすなど激しい炎症を惹起するに止まらず、感染8-12日目を



一クに有意な体重減少を引き起こし、およそ 2 週間で腸管から排除された。

### 3. 熱帯熱マラリア原虫の脂質代謝・輸送の分子機構の解明

マウス赤内型の初期の増殖においては、PbDes9 KO と親株はほぼ同程度であったが、その後 PbDes9 KO の増殖に明らかな遅延が観察された。ハマダラ蚊体内に形成されるオーシストの数、感染蚊唾液腺内の感染性スポロゾイトの数は、PbDes9 KO と親株との間で有意な差がなかった。また、PbDes9 KO、親株が同程度数形成された。感染ハマダラ蚊唾液腺内のスポロゾイトのマウス尾静脈注射では親株に比べて、PbDes9 KO では赤内型が観察されるマウスの頭数は著しく少なかった。以上、Des9 の重要性が顕著に表れるステージは、感染ハマダラ蚊の吸血によるマウスへの感染が成立する時期であることがわかった。

### 4. トキソプラズマの細胞侵入機構の解明

GPI アンカー生合成能欠失変異 CHO 細胞の原虫への感受性を野生株と比較した結果、有意に感受性が上昇していた。また野生株と変異株では感染後期の増殖に差が認められた。よって宿主の GPI アンカー又は GPI アンカー型蛋白質が、原虫の後期の増殖を阻害している可能性が示唆された。ロプトリー蛋白質は、parasitophorous vacuole 膜 (PV 膜) の形成に関与することが知られており、原虫の宿主侵入の際に小胞 (evacuole) として原虫から宿主に注入される。原虫による ROP1、2 及び 16 の evacuole 形成能を比較したところ、変異株で明らかに evacuole の形成が過剰になっていた。また、ROP1、2 及び 16 の過剰な evacuole の一部は、共局在していた。PV 膜に宿主のミトコンドリアリクルートには ROP2 が関与することが知られているので、原虫のミトコンドリア・リクルート能を比較したところ、明らかに変異株内でのリクルートが増加していた。

### 5. アカントアメーバ角膜炎の疫学的研究

アカントアメーバ角膜炎の分離株収集に

基づくモニタリング調査を行い、近年のアメーバ角膜炎増加の要因を分子疫学的に解析した。起因アメーバはこれまで角膜炎に密接に関連することが知られる T4 という遺伝子タイプに分類された。1 株 T11 が確認されたが、角膜炎に関連する新たなタイプは確認されなかった。なお、T4 の中のいくつかのシークエンスタイプのアメーバが全国的に分布する可能性が示された。アメーバ角膜炎増加の微生物学的要因としては、これまで環境中に生息しているアメーバの感染リスクが増加した可能性が想定された。またアメーバ汚染のもとになっているコンタクトレンズ保存液の細菌汚染についても検討し、分離・培養で検出されるよりはるかに多くの環境菌に汚染されていることが判明した。

### 6. ジアルジア症迅速診断キット開発に向けた抗ジアルジアモノクロナル抗体の作製

前年度単離した抗ジアルジアモノクロナル抗体の性能評価を行った。フローサイトメトリーによる糞便試料の反応性の解析からは、挟雑物と比較してシストに対する反応特異性の高さが示され、シストに対する免疫蛍光試薬としての有用性は市販製品と差がなかった。一方、糞便中のシスト壁抗原を検出することを目的とした ELISA 系の最適化に関しては、実際の糞便試料を用いた試験において、他の消化管原虫陽性試料ならびに陰性試料における低い反応性からは ELISA 系の高い特異性が示された。

### 7. 赤痢アメーバのメタロニダゾール耐性のトランスクリプトーム解析

実験室で作出したメタロニダゾール耐性赤痢アメーバのトランスクリプトーム解析を行い、統計解析を行い 3 倍以上発現差のあった 82 遺伝子を抽出した。その中で、メタロニダゾールの活性化を行うことが報告された EhNO2 の発現が減少していた。よって他の原虫ではメタロニダゾールは Pyruvate Ferredoxin Oxidoreductase (PFOR) により活性化されるが、赤痢アメーバでは EhNO2 が重要であることが示された。また、より高濃度の

メタロニダゾールに耐性のある株の樹立を行い、本研究により見出された遺伝子の重要性と再現性を確認できる準備が完了した。

#### 8. 蠕虫遺伝子発現制御機構の解明、及び寄生虫症診断法の開発

モデル寄生虫のひとつであるベネズエラ糞線虫のトランスクリプトームを新型シーケンサで解析し、約 14,000 の isotig/contig にアセンブルし、7,560 に何らかのアンノテーションを付けることができ、1,591 については酵素活性を推定することができた。

*C. elegans* タンパク質にヒットしたものは 10,569 個、統合線虫 EST データベースである NEMABASE4 には 11,367 個がヒットした。幼虫移行症の組換え診断システム構築のために、ブタ回虫およびイヌ回虫の組換えタンパク質を用いて患者血清との反応を調べたところ、病原体診断に使用できると考えられる結果を得た。

#### 9. エキノコックスの嫌氣的呼吸鎖の生理機能の解明

これまで確立した分離法ではミトコンドリア画分の量が極めて少なく、カラムクロマトグラフィーを用いた通常の方法では複合体 II を精製する事は困難であったため、微量のタンパク質複合体を活性を保持したままの状態 で分離する事が可能な High resolution Clear Native Electrophoresis (hrCNE) を用いた精製法を確立した。更に、二次元に展開し、全てのサブユニットを分離して N 末端分析を行なった。

複合体 II を構成する Fp, Ip, CybL, CybS の 4 サブユニットとともに、細菌報告のあった複合体 II のアセンブリー因子 Succinate dehydrogenase assembly factor (SDHAF) 1、SDHAF2 のクローニングが終了し、配列が決定された。各サブユニットの配列はペプチドより決定した N 末端のアミノ酸配列を含み、扁形動物に属する住血吸虫の配列に最も近かった。興味深い事に 2 種の Ip の存在が明らかになった。また SDHAF1 は mitochondrial matrix protein 37 と融合していた。

#### 10. 蠕虫の腸管感染排除機構の解明

MAR-1 処置マウス、Bas-TRECK マウスのいずれの好塩基球を欠損したマウスでも、Sv を感染させた場合、排虫時期が野生型マウスに比べて著しく遅延した。

このときの腸間膜リンパ節 T 細胞からのサイトカイン産生、血清中 IgE 産生、粘膜型肥満細胞の誘導には好塩基球の有無で変化は認められなかった。

#### 11. 寄生蠕虫症の病態と検査診断結果に関する解析

今回の血清検査における村落毎の ELISA 陽性率は 5.1%~50.8%と幅があったが、2009 年度の調査で高い虫卵陽性率 (30%) を示した村落 (Kbal Chhur) では、50.8% と高い ELISA 陽性率を示した。一方、ラオスの Van Vieng 地域での感染が疑われたイスラエル人旅行者については、13 人中 6 人が陽性を示した。フィリピンの日本住血吸虫症有病地での調査では、Gonzaga, CAGAYAN 州で以前行った超音波検査の結果、進行した肝線維化を示した 167 例中、5 例は日本住血吸虫卵による ELISA の結果が陰性となった。また、Calatrava, NEGROS 州では、同様な 87 例中、2 例が ELISA で陰性となった。

#### 12. 住血吸虫症の血清診断キット開発・評価

SJT226 分子内の B-cell epitope として、感染マウス、感染者の血清、尿中抗体を用いて 5 種を特定した。ペプチド配列等抗原構造の詳細は割愛する。決定した B-cell epitope を含む人工合成抗原を作製して、免疫診断法 (ELISA および ICT) に導入した結果、同等あるいは優れた検出率及び特異性が確認出来た。

#### 13. 寄生蠕虫症(条虫症)の検査診断法開発

改良型 ICT キットを用いて健常者血清の反応性を検討したところ、旧 ICT キットでは 50 検体中、非特異的反応は 1 例も検出されなかったが、改良型 ICT キットでは検出感度を上げたことによって、健常者血清 6 例で非特異的反応が認められた。ブラジル

人トキソカラ症患者血清との反応では、旧 ICT キットでは陽性率が 26 %であったが、改良型 ICT キットでは 74 %に上昇した。さらに、抗体価が低い眼部トキソカラ症血清 11 例中 7 例も検出可能となった。国内でトキソカラ症、あるいはブタ回虫幼虫移行症と診断された検体との反応に関しては、改良型 ICT の 84 %で陽性反応が示された。

3 種の Manson 孤虫抗原は Manson 孤虫症患者血清 (14 検体) とはすべて陽性反応を示した。顎口虫症患者血清 (8 検体) では PBS 抽出抗原と CP 抗原では特異性が高いことが判ったが、PM 抗原を用いた場合には、顎口虫症患者血清高いで交差反応が認められた。この結果から、PM 抗原は ICT キットの抗原候補から除外した。そこで、PBS 抗原と CP 抗原を用いて ICT キットを試作し、反応性を評価したところ、PBS、CP 両抗原とも Manson 孤虫症患者血清とはすべて陽性反応を示した。また、陰性対照としての健常者血清とは全く非特異的反応は認められなかった。

国内外の医療機関から提供された多くの臨床検体、具体的には日本海裂頭条虫、広節裂頭条虫、アジア条虫、無鉤条虫、有鉤条虫、フィラリアの一種、肝毛細虫、Manson 孤虫、有棘顎口虫、有鉤囊虫について、cox1 遺伝子の塩基配列情報や個々の寄生虫の鑑別法の条件を検討した。

#### 14. 食品媒介性吸虫症の検査診断法開発

アニサキスについては、近年の国際的な研究成果の適用を鑑み、保存状態が悪い臨床検体にも応用できる様なプライマーを設計・作製した。また肺吸虫については、迅速で簡便な診断キットを作製し、併せてキットの精度管理に必要な試料の収集に努めた。その結果、新たに構築したプライマーを PCR に用いれば、Anisakis I 型・II 型に属する少なくとも 4 種類のアニサキス虫体から確実に増幅産物が得られ、それを利用して分子同定ができることを明らかにした。また、ホルマリン固定が長期に及ぶ臨床検体に応用して、アニサキス虫体が共に *Anisakis simplex sensu stricto* であることも明らかにした。肺吸虫に関しては、免疫

クロマトグラフィー法に基づく迅速診断キットを、ヒロクチ肺吸虫の ES 抗原を用いて作製し、本キットがインドなどの海外における肺吸虫症の血清診断に有用との可能性を示した。またヒロクチ肺吸虫による脳肺吸虫症のインドにおける第一例を見出して報告した。

#### 15. 腸管寄生吸虫症の遺伝子診断法開発

今回使用した「メタゴニムス虫卵陽性」124 例すべてで虫卵が確認され、検出状況は平均 13 個 (1~87 個、中央値 7 個)であった。全例についてマルチプレックス PCR 法による感染虫種の鑑別を実施したところ、宮田吸虫が 50 例 (40.3%)、横川吸虫が 58 例 (46.8%)、両種混合が 16 例 (12.9%) と判定された。

#### D. 考察

顧みられない病気、特に寄生虫症の克服のためには、様々ないくつかの指摘すべき問題が存在する。第一に、全数把握等のモニタリング・サーベイランスシステムが存在しないこと。第二に、第一の目的に不可欠な寄生虫の鑑別法、寄生虫症の血清診断キットの整備が不十分であることである。これら 2 つの目的を達成するためには、言うまでもなく、これら寄生虫感染におけるの病原性・寄生・感染防御機構の基盤的理解が不可欠である。

最終年度の研究は、ほぼ当初の研究計画に従って進められ、十分な発展を見せた。原虫のサーベイランスに関しては、特に、アカントアメーバ角膜炎のサーベイランスシステムが実際に運用され、検体の集約・解析が十分に進められた。原虫診断キットの作成に関しては、ジアルジアの診断キット作成に必要な単クローン抗体の性状解明が十分に進められた。蠕虫症の診断キットに関しても、住血吸虫症・幼虫移行症・食品媒介性蠕虫症の診断システム構築に向けて十分な進展を達成した。

基盤的研究に関しても、赤痢アメーバと類縁であり、これまで病原性をもたないと考えられていた *E. moshkovski* に病原性があり、赤痢アメーバと異なる PAMPs

を持つことを示す等、重要な進展を見せた。また、Entamoeba の逆遺伝手法の開発において達成した成果も今後の研究の展開に不可欠であった。また、アピコプラスト科に属するトキソプラズマ・マラリア原虫の侵入・ハイジャック機構、脂肪酸代謝機構に関しても顕著の進展を達成した。蠕虫の基礎研究に関しても、糞線虫を用いたゲノム・転写解析は更に展開した。また、エキノコックスの創薬に関しても、標的酵素の生化学的性質が特定された。

以上、3年次の研究は十分な成果を収めた。

#### E. 結論

3年度の研究は、研究計画に従って進められ、予定通りの成果を生んだ。本研究計画の遂行により、(1) NTD の検査診断キットの開発・普及；(2) 検査・診断のガイドラインの作成；(3) 寄生虫症の発生動向の把握；(4) 寄生虫症の感染・寄生機構、免疫の知的基盤の整備；(5) 研究グループ・研究者の育成などに貢献すると期待される。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Yousuf, M. A., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Localization and targeting of unusual pyridine nucleotide transhydrogenase in Entamoeba histolytica. Eukaryot. Cell 9, 926-933, 2010.

Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Husain, A., and Nozaki, T. Conservation and function of Rab small GTPases in Entamoeba: annotation of E. invadens Rab and its use for the understanding of Entamoeba biology. Exp. Parasitol, 126, 337-347, (Review) 2010.

Mendoza-Macías, C. L., Barrios-Ceballos, M. P., Anaya-Velázquez, F., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., and

Padilla-Vaca, F. Entamoeba histolytica: molecular cloning and characterization of a novel neutral sphingomyelinase. Exp. Parasitol. 125, 279-285, 2010.

Mishra, V., Ali, V., Nozaki, T., and Bhakuni, V. Entamoeba histolytica phosphoserine aminotransferase (EhPSAT): Insights into the structure-function relationship. BMC Research Notes 3, 52, doi:10.1186/1756-0500-3-52, 2010.

Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Ali, V., Suematsue, M., Soga, T., and Nozaki, T. Two Atypical L-cysteine-regulated NADPH-dependent oxidoreductases involved in redox maintenance, L-cystine reduction, and metronidazole activation in the enteric protozoon Entamoeba histolytica. J. Biol. Chem., 285, 26889-26899, 2010.

Saito-Nakano, Y., Nakahara, T., Nakano, K., Nozaki, T., and Numata, O. Marked amplification and diversification of Rab GTPases in ciliates Tetrahymena thermophila and Paramecium tetraurelia. J. Eukaryot. Microbiol. (in press), 2010.

Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolome analysis revealed increase in S-methylcysteine and phosphatidylisopropanolamine synthesis upon L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite Entamoeba histolytica. J. Biol. Chem. 285, 39160-39170, 2010.

Mukherjee, A. K., Das, K., Bhattacharya, M. K., Nozaki, T. and Ganguly, S. Trend of Entamoeba histolytica infestation in Kolkata. Gut Pathogens 2:12doi:10.1186/1757-4749-2-12, 2010.

佐藤暖、野崎智義 赤痢アメーバ原虫に対するトリフルオロメチオニン誘導体の有効性 ビタミン 84, 250-254, 2010.

- Ishida, H., Matsuzaki-Moriya, C., Imai, T., Yanagisawa, K., Nojima, Y., Suzue, K., Hirai, M., Iwakura, Y., Yoshimura, A., Hamano, S., Shimokawa, C., Hisaeda, H. Development of experimental cerebral malaria is independent of IL-23 and IL-17. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402, 790-795, 2010.
- 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 Entamoeba histolytica transmembrane kinase family play non-redundant roles in growth and phagocytosis. *Int. J. Parasitol.* 40, 833-843, 2010.
- Miyazaki, Y., Hamano, S., Wang, S., Shimanoe, Y., Iwakura, Y., Yoshida, H. IL-17 is necessary for host protection against acute-phase Trypanosoma cruzi infection. *J. Immunol.* 185, 1150-1157, 2010.
- Imai, T., Shen, J., Chou, B., Duan, X., Tu, L., Tetsutani, K., Moriya, C., Ishida, H., Hamano, S., Shimokawa, C., Hisaeda, H., Himeno, K. Involvement of CD8+ T cells in protective immunity against murine blood-stage infection with Plasmodium yoelii 17XL strain. *Eur. J. Immunol.* 40, 1053-1061, 2010.
- 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, 4489, 39-43, 2010.
- 永宗喜三郎 トキソプラズマが産生する植物ホルモン。感染症・炎症・免疫, 40, 181-183, 2010.
- 敏彦、江口洋、大橋裕一、下村嘉一、外園千恵、田川義継、近間泰一郎、福田昌彦、古川敏仁 重症コンタクトレンズ関連角膜感染症調査からみた危険因子の解析。日本コンタクトレンズ学会誌, 52, 25-30, 2010.
- 大谷史江、宮崎大、池田欣史、矢倉慶子、井上幸次、八木田健司、大山奈美 細菌性角膜炎からアカントアメーバ角膜炎に移行したと考えられる1例。あたらしい眼科, 27, 805-808, 2010.
- 井上幸次 国民生活センターのソフトコンタクトレンズ用消毒剤の消毒性能調査について。日本コンタクトレンズ学会誌, 52, 210-212, 2010.
- 丸山治彦 その他の吸虫症（肺吸虫症、肝吸虫症、横川吸虫症、肝蛭症）（今日の治療指針 2011、山口徹、北原光夫、福井次矢編）、pp.263-264、医学書院（東京）
- 木村幹男、丸山治彦、三浦聡之 熱帯病・寄生虫症に対する研究班保管国内未承認薬。Medical Practice, 27, 1565-1568, 2010.
- 丸山治彦：腹部症状（腹痛、下痢、下血など）（寄生虫の標的臓器別症状からすすめる実地診療—疑い、問診・診断から治療まで—） Medical Practice, 27, 1496-1550, 2010.
- 丸山治彦 寄生虫検査（これだけは知っておきたい検査のポイント第8集）。medicina, 47 増刊号, 33-34, 2010.
- Yoshida, A., Nagayasu, E., Nishimaki, A., Sawaguchi, A., Yanagawa, S., Maruyama, H. Transcripts analysis of infective larvae of an intestinal nematode. Strongyloides venezuelensis Parasitol Int, 60, 75-83, 2010.
- Sakata-Yanagimoto, M., Sakai, T., Maruyama, H., Nakagami-Yamaguchi, E., Kumano, K., Kuroakwa, M., Ogawa, S., Yasutomo, K., Chiba, S. Notch2 signaling is required for proper mast cell distribution and mucosal immunity in the intestine. Blood, 117, 128-34, 2010.
- Uni, S., Boda, T., Daisaku, K., Ikura, Y., Maruyama, H., Hasegawa, H., Fukuda, M., Takaoka, H., Bain, O. Zoonotic filariasis caused by Onchocerca dewittei japonica in a resident of Hiroshima Prefecture, Honshu, Japan. Parasitol Int, 59, 477-480, 2010.
- 安東加恵、榎原真由美、徳安彰子、明石哲

- 彦、高谷恵子、丸山治彦 気胸・胸水から診断された肺吸虫症の 1 例. 大分市医師会医学雑誌アルメイダ医報, 37, 2-6, 2010.
- 宮腰淑子、関谷可奈子、佐藤晶、五十嵐修一、山崎元義 好酸球性髄膜炎を呈したドロレス顎口虫症の 1 例. *Clinical Parasitol* 21, 73-76, 2010.
- 宇仁茂彦、保田智之、大作浩一、福田昌子、丸山治彦、長谷川英男、高岡宏行 イノシシに寄生する *Onchocerca dewittei japonica* による人体寄生例：広島県の症例を含むわが国の症例について. *Clinical Parasitol*, 21, 73-76, 201077-80, 2010.
- 山崎宙、山口浩司、佐田政隆、丸山治彦、松岡裕之 趾間部のマダニ咬傷後に足趾血行不良から壊死に陥った 1 例. *Clinical Parasitol* 21, 103- 106, 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 *Trypanosoma brucei*. *Acta Crystallographica*, F66, 275-278, 2010.
- Hikosaka, K., Watanabe, Y., Tsuji, N., Kita, K., Kishine, H., Arisue, N., Palacpac, N. M. Q., Kawazu, S., Sawai, H., Horii, T., Igarashi, I. and Tanabe, K. Divergence of mitochondrial genome structure in the apicomplexan parasites, *Babesia* and *Theileria*. *Mol. Biol. Evolution* (2010) 27, 1107-1116
- 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 Kita, K. Overproduction, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of *Trypanosoma brucei gambiense* glycerol kinase. *Acta Crystallographica*, F66, 304-308, 2010.
- 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 *Trypanosoma brucei brucei*. *Biochim Biophys. Acta (Bioenergetics)*, 1797, 443-450, 2010.
- Masuda, I., Matsuzaki, M. and Kita, K. Extensive frameshift at all AGG and CCC codons in the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 gene of *Perkinsus marinus* (Alveolata; Dinoflagellata). *Nucleic Acids Research*, 38, 6186-6194, 2010.
- Nakamura, K., Fujioka, S., Fukumoto, S., Inoue, N., Sakamoto, Hirata, H., Kido, Y., Yabu, Y., Suzuki, T., Watanabe, Y., Saimoto, H., Akiyama, H. and Kita, K. Trypanosome alternative oxidase, a potential therapeutic target for sleeping sickness, is conserved among *Trypanosoma brucei* subspecies. *Parasitol. Int.*, 59, 560-564, 2010.
- Hikosaka, K., Nakai, Y., Watanabe, Y., Tachibana, S., Arisue, N., Palacpac, N. M., Toyama, T., Honma, H., Horii, T., Kita, K. and Tanabe, K. Concatenated mitochondrial DNA of the coccidian parasite *Eimeria tenella*. *Mitochondrion*, 11, 273-278, 2010.
- 安田好文, 中西憲司. 寄生虫に対する粘膜免疫. 清野宏 編. 臨床粘膜免疫学. 東京:シナジー, 2010:522-529
- 中西憲司 IL-18 とユニークなアレルギー. *ファルマシア*, 46, 55-59, 2010.
- 中平雅清, 中西憲司 Super Th1 細胞/IL-18 による非 IgE 炎症と気管支喘息. *呼吸*, 29, 37-43, 2010.
- 松本真琴, 中西憲司. IL-18 と免疫疾患. *Fronti Rheumatol Clin Immunol.*, 4, 37-43, 2010.
- 中西憲司 好塩基球によるアレルギー性炎

- 症の誘導と憎悪. アレルギー, 59, 251, 2010.
- 筒井ひろ子, 中西憲司. 自然型アレルギー. 侵襲と免疫, 19, 85-86, 2010.
- 善本知広, 中西憲司. アレルギーとIL-18/IL-33. 実験医学, 28, 1975-1981, 2010.
- 小坂久, 善本知宏, 中西憲司, 藤元治朗. 腹腔内術後癒着形成におけるIFN- $\gamma$ の重要性. 炎症と免疫, 18, 531-537, 2010.
- 中平雅清, 中西憲司. アレルギー憎悪機構. 臨床免疫・アレルギー科, 54, 224-233, 2010.
- 安田好文, 中西憲司. IL-33と好塩基球、マスト細胞-免疫応答と疾患における役割. 炎症と免疫 2010;18:585-591.
- 中平雅清, 中西憲司. Super Th1細胞/IL-18による非IgE炎症と気管支喘息. 呼吸, 29, 115-121, 2010.
- 松本真琴, 中西憲司. IL-18と免疫疾患. Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology, 4, 37-43, 2010.
- 中西憲司. 好塩基球: 新たな視点からみたアレルギー性炎症の誘導, 序. 炎症と免疫, 18, 1-2, 2010.
- Kawa, K., Tsutsui, H., Uchiyama, R., Kato, J., Matsui K., Iwakura, Y., Matsumoto, T., Nakanishi, K. IFN- $\gamma$  is a master regulator of endotoxin shock syndrome in mice primed with heat-killed *Propionibacterium acnes*. Int Immunol, 22, 157-66, 2010.
- Nakanishi, K., Tsutsui, H., Yoshimoto, T. Importance of IL-18-Induced Super Th1 Cells for the Development of Allergic Inflammation. Allergol Int., 59, 137-141, 2010.
- Kuroda-Morimoto, M., Tanaka, H., Hayashi, N., Nakahira, M., Imai Y., Imamura, M., Yasuda, K., Yumikura-Futatsugi, S., Matsui K, Nakashima, T., Sugimura, K., Tsutsui, H., Sano, H., Nakanishi, K. Contribution of IL-18 to eosinophilic airway inflammation induced by immunization and challenge with *Staphylococcus aureus* proteins. Int Immunol, 561-570, 2010.
- Matsuba-Kitamura, S., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Futatsugi-Yumikura, S., Taki, Y., Muto T., Ikeda, T., Mimura, O., Nakanishi, K. Contribution of IL-33 to induction and augmentation of experimental allergic conjunctivitis. Int Immunol., 22(6), 479-489, 2010.
- Nakanishi, K. Basophils are potent antigen-presenting cells that selectively induce Th2 cells. Eur J Immunol., 40(7), 1836-42, 2010.
- Yoshikawa, S., Iijima, H., Saito, M., Tanaka, H., Imanishi, H., Yoshimoto, N., Yoshimoto, T., Futatsugi-Yumikura, S., Nakanishi, K., Tsujimura, T., Nishigami, T., Kudo, A., Arii, S., Nishiguchi, S. Crucial role of impaired Kupffer cell phagocytosis on the decreased Sonazoid-enhanced echogenicity in a liver of a nonalcoholic steatohepatitis rat model. Hepatol Res, 40, 823-831, 2010.
- Tsutsui H., Imamura M., Fujimoto J., Nakanishi K. The TLR4/TRIF-Mediated Activation of NLRP3 Inflammasome Underlies Endotoxin-Induced Liver Injury in Mice. Gastroenterol Res Pract, 641865, 2010.
- Satoh, T., Takeuchi, O., Vandenbon, A., Yasuda, K., Tanaka, Y., Kumagai, Y., Miyake, T., Matsushita, K., Okazaki, T., Saitoh, T., Honma, K., Matsuyama, T., Yui, K., Tsujimura, T., Standley, DM, Nakanishi, K., Nakai, K., Akira, S. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. Nat Immunol, 11, 936-944, 2010.
- Nakanishi, K. Basophils as APC in Th2 response in allergic inflammation and parasite infection. Curr Opin Immunol, 22, 814-20, 2010.
- Kumagai, T., Furushima-Shimogawara, R.,

- Ohmae, H., Wang, TP, Lu, S., Chen, R., Wen, L., Ohta, N. Detection of early and single infections of *Schistosoma japonicum* in the intermediate host snail, *Oncomelania hupensis*, by PCR and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay. *Am J Trop. Med Hyg*, 83, 542-548, 2010.
- Kirinoki, M., Chigusa, Y., Ohmae, H., Matsumoto, J., Kitikoon, V., Sinuon, M., Saem, C., Socheat, D., Matsuda, H. Efficacy of sodium metaperiodate (SMP)-ELISA for the serodiagnosis of schistosomiasis mekongi. *Southeast Asi J Trop Med Pub Hlth*, 42, 25-33, 2011.
- 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*, 127, 708-713, 2011.
- Nkouawa, A., Sako, Y., Itoh, S., Kouojip-Mabou, A., Nganou, C.N., Knapp, J., Yamasaki, H., Nakao, M., Moyou-Somo, R., Ito, A. Serological studies of neurologic helminthic diseases in Southern Cameroon: toxocariasis, paragonimiasis, cysticercosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4, e723, 2010.
- Dang, T.C., Nguyen, T.H., Do, T.D., Uga, S., Morishima, Y., Sugiyama, H., Yamasaki, H. A human case of subcutaneous dirofilariasis caused by *Dirofilaria repens* in Vietnam: histologic and molecular confirmation. *Parasitology Research*, 107, 1003-1007, 2010.
- 小出照子、山崎 浩、渡辺伸元、木許 泉、河邊太加志 日本海裂頭条虫症の兄妹例。日本小児科学会誌, 114, 1065-1068, 2010.
- 青笹直彦、常深祐一郎、大藤由佳、 甲斐浩道、森村壮志、柿沼 誉、玉置邦彦、佐藤伸一、前田卓哉、山崎 浩 有棘顎口虫による幼虫移行症の 1 例。皮膚科の臨床, (印刷中)2011.
- 山崎 浩、杉山 広、森嶋康之、大前 比呂思、椎木創一、奥山久仁男、国島文史 Racemose 型有鉤囊虫による脳有鉤囊虫症の 1 例。 *Clinical Parasitology*, 21, 29-32, 2011.
- 西尾福真理子、吉川正英、王寺幸輝、石坂重昭、笠原 敬、三笠桂一、福井 博、久保里美、平 康二、山崎 浩 2009 年に経験した日本海裂頭条虫症の 5 例。 *Clinical Parasitology*, 21, 26-28, 2011.
- 荒木 潤、安部正史、白倉哲郎、田中和生、下間 祐、井廻道夫、森本栄治、中村揚介、山崎 浩 自然排虫された幼若裂頭条虫の鑑別例。 *Clinical Parasitology*, 21, 37-39, 2011.
- 安倍正史、木村 聡、白倉哲郎、荒木 潤、山崎 浩、光谷俊幸、太田秀一、諸星利男、九島巳樹、田中和生 病理解剖遺体調査で遭遇した寄生虫学的に興味ある 2 症例について。 *Clinical Parasitology*, 21, 50-54, 2011.
- 高橋 岳、三井良雄、小泉信人、杉山 広 刺身を原因食品として千葉市で発生したアニサキスによる食中毒。病原微生物検出情報, 31, 142, 2010.
- Singh, T.S., Khamo, V. and Sugiyama, H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculoma: First case report in India. *Tropical Parasitology*, 1, 39-41, 2011.
- ## 2. 学会発表
- 古川敦、津久井久美子、山田陽子、坪井久美子、野崎智義 赤痢アメーバにおける病原性因子輸送機構の分子論的解明：新規システインプロテアーゼレセプターの同定と機能解析 第 79 回日本寄生虫学会大会 旭川 May 20-21, 2010.
- 見市文香、牧内貴志、モハンマド・アブ・ユースフ、野崎智義 赤痢アメーバ原虫"mitosome"に存在する硫酸活性化経路の生理機能の解明 第 79 回日本



- 寄生虫学会大会 旭川 May 20-21, 2010.
- 牧内貴志、見市文香、津久井久美子、野崎智義 *Entamoeba* マイトソームにおけるタンパク質輸送機構の解析 第79回日本寄生虫学会大会 旭川 May 20-21, 2010.
- Sato, D., Husain, A., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolic analysis of the human enteric parasite *Entamoeba histolytica*: Discovery of unique pathways and potential targets for chemotherapeutics. *Metabolomics* 2010, Amsterdam, The Netherlands June 27-July 1, 2010.
- Jeelani, G., Sato, D., Husain, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomics of parasite differentiation: metabolomic profiling of the human enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* revealed activation of unpredicted pathways during differentiation of the proliferative into dormant stage. *Metabolomics* 2010, Amsterdam, The Netherlands, June 27-July 1, 2010.
- Nozaki, T. Unprecedented role of the mitosome in *Entamoeba histolytica*. The 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, Kanazawa, Japan, July 2-7, 2010.
- Nozaki, T. Mitosomes from the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* possess unique functions and minimal import machinery. The XIIth International Congress of Parasitology. Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.
- Saito-Nakano, Y., Okada, M., Penuliar, G., M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, N., and Nozaki, T. Diversity and significance of vesicular trafficking in *Entamoeba histolytica*. *Amebiasis Workshop* 2010, "Molecular Approaches and Clinical Aspects", Montreal, September 22-24, 2010.
- Nozaki, T., Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., Suematsu, M., and Soga, T. Metabolomic analysis of *Entamoeba*: discovery of unique pathways and potential targets for chemotherapy. *Amebiasis Workshop* 2010, "Molecular Approaches and Clinical Aspects" September 22-24, 2010, Montreal.
- Penuliar, G. and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. *Amebiasis Workshop* 2010, "Molecular Approaches and Clinical Aspects" Montreal, September 22-24, 2010.
- Escueta-de Cadiz, A., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. *Entamoeba invadens*: Transcriptome analysis during encystation. 21st Molecular Parasitology Meeting, WoodsHole, Massachusetts, USA. September 12-16, 2010.
- Nozaki, T., Mi-ichi, F., Makiuchi, T., Yousuf, M. A., Nakada-Tsukui, K. Functional diversity of mitochondrion-related organelles in eukaryotes. 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (WS 進化からみたタンパク質社会) 神戸、December 7-10, 2010.
- Andrabi, S. B. A., 田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邊和裕、野崎智義 トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖に与える影響 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (WS 細胞内共生オルガネラが駆動する生物の進化と多様性) 神戸、December 7-10, 2010.
- 村野祥子、佐藤暖、唐木剛、岡知宏、亀井加恵子、中沢隆、野崎智義、原田繁春 一連の酵素反応中間体との複合体構造に基づいた *Entamoeba histolytica* メチオニンガンマリアーゼ1の酵素反

- 応機構第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 神戸、December 7-10, 2010.
- Saito-Nakano, Y., Nakano, K., and Nozaki, T. Diversity of vesicular trafficking in phagocytic protozoa and significance of traffic in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Penuliar, G. M., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Escueta-de Cadiz, A., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. *Entamoeba invadens*: transcriptome analysis during encystation. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Jeelani, G., Sato, D., Husein, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomic analysis during differentiation of enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* into the infectious cyst stage. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Andrabi, S. B. A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., and Nagamune, K. Plant hormone cytokinins: elucidating their role in *Toxoplasma gondii*. Husain, A. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Trafficking mechanisms of phagosomal proteins in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Mi-ichi, F., Yousuf, A., Makiuchi, T., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Gene silencing of mitochondrial proteins causes growth inhibition and suggests essentiality of mitochondria in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Mi-ichi, F., Ali, V., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomic analysis of sulfur containing amino acid metabolism in *E. histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Analysis of the protein import machinery in the *Entamoeba* mitochondrial remnant. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Analysis of the protein import machinery in the *Entamoeba* mitochondrial remnant. *Biology of Symbiosis: Memorial Symposium for the 26th International Prize for Biology-Celebrating Dr. Nancy A. Moran*. Tsukuba, Japan, December 7-8, 2010.
- Chikako Shimokawa, Seiki Kobayashi, Masachika Senba, Eric Houpt, William A Petri Jr., Rashidul Haque, Shinjiro Hamano: Pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii* in human and mice. 第 80 回日本寄生虫学会大会、東京、2011 年 3 月
- Kentaro Kato, Shinjiro Hamano A comparative study on glycosylation patterns of mucus glycoprotein between CBA and C57BL/6 mice. 第 80 回日本寄生虫学会大会、東京、2011

- 年 3 月.
- Chikako Shimokawa, Mamum Kabir, Mami Taniuchi, Dinesh Mondal, Seiki Kobayashi, Ibne Karim M. Ali, Masachika Senba, Eric Hoput, Haque Rashidul, William A. Petri Jr., Shinjiro Hamano: A study on the pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii*. 第 4 回 原虫感染免疫研究会、長崎、2011 年 2 月.
- Shinjiro Hamano: A study on the pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii*. 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, 2011 年 1 月.
- Shinjiro Hamano: A study on the pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii*. Intestinal and Free-Living Protozoan Parasites Meeting in 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, 2011 年 1 月.
- 下川周子、小林正規、千馬正敬、加藤健太郎、大野民生、濱野真二郎、マウスモデルを用いた赤痢アメーバの病原性発現機構の解析、第 63 回 南日本支部会、鹿児島、2010 年 11 月.
- 下川周子、小林正規、千馬正敬、加藤健太郎、大野民生、Haque Rashidul, William A. Petri Jr., 濱野真二郎: 赤痢アメーバの病原性に関する研究、第 9 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、長崎、2010 年 10 月.
- Chikako Shimokawa, Seiki Kobayashi, Masachika Senba, Eric Houpt, Shinjiro Hamano: *Entamoeba moshkovskii* can establish the infection in the cecum of mice and induce pro-inflammatory cytokine production. 第 14 回国際免疫学会、神戸、2010 年 8 月.
- 下川周子、小林正規、千馬正敬、加藤健太郎、大野民生、Haque Rashidul, William A. Petri Jr., 濱野真二郎: *E. moshkovskii* の病原性に関する研究、第 18 回 分子寄生虫学ワークショップ、草津、2010 年 8 月.
- 加藤健太郎、濱野真二郎: ムチン型糖鎖と寄生虫感染、第 18 回 分子寄生虫学ワークショップ、草津、2010 年 8 月.
- 三田村俊秀、岡田麻美、見市文香、栃倉英人、野崎智義、狩野繁之: 熱帯熱マラリア原虫  $\Delta 9$ -desaturase の赤血球期における役割: 第 79 回日本寄生虫学会大会、旭川市大雪クリスタルホール、2010.5.20-21.
- 永宗喜三郎 “The role of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*.” 筑波大学「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」若手フェスティバル 2010, 長野県上田市, 2010 年 5 月.
- Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonu-ma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozak-i, T., Nagamune, K. “The effect of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*.” 第 79 回日本寄生虫学会, 旭川, 2010 年 5 月.
- 青沼宏佳、遠山知子、田原美智留、Andrabi, S.B.A., 田邊和裕、永宗喜三郎 “植物ホルモンジベレリン生合成阻害剤はトキソプラズマの増殖を抑制する” 第 79 回日本寄生虫学会、旭川、2010 年 5 月.
- 遠山知子、永宗喜三郎、川出洋、堀井俊宏、田邊和裕 “Inhibitors of gibber-ellin, a plant hormone, induces swelling and rupture of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum*.” 第 79 回日本寄生虫学会、旭川、2010 年 5 月.
- 田原美智留、Andrabi, S.B.A., 青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎 “宿主細胞側 GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響” 第 79 回日本寄生虫学会、旭川、2010 年 5 月.
- Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonu-ma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozak-i, T., Nagamune, K. “The effect of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*.” The 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, Kanazawa, Japan, July 2010.

- Syed Bilal Ahmad Andrabi, 田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邊和祐、野崎智義、永宗喜三郎 “トキソプラズマは植物ホルモン・サイトカイニンを産生し、原虫の増殖調節に用いている” 第 18 回分子寄生虫学ワークショップ、群馬、2010 年 8 月.
- Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. “Plant hormone cyto-kinins: Elucidating their role in *Toxoplasma gondii*.” Molecular Parasitology Meeting XXI, Woods Hole, MA, USA, September 2010.
- Syed Bilal Ahmad Andrabi, 田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邊和祐、野崎智義、永宗喜三郎 “トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖における影響” 第 9 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、長崎、2010 年 10 月.
- Nagamune, K. “Protozoan parasites and plant hormones.” International Symposium on Cell functions Mediated by Small Molecules, Tsuku-ba, November 2010.
- Fkshi, M., Aonuma, H., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Nagamune, K. “An-alyzing the mechanism of action of pr-imaquine on *Toxoplasma gondii*.” Inter-national Symposium on Cell functions Mediated by Small Molecules, Tsukuba, November 2010.
- Syed Bilal Ahmad Andrabi, 田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邊和祐、野崎智義、永宗喜三郎 “トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖に与える影響” 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2010 年 12 月.
- Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Aonuma, H., Kinoshita, T., and Nagamune, K. “The effect of host GPI-anchor to *Toxoplasma gondii* infection.” 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, January, 2011.
- Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Noza-ki, T., Nagamune, K. “Plant hormone cytokinins: Elucidating their role in *Toxoplasma gondii*.” 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, January, 2011.
- 永宗喜三郎 “トキソプラズマの生存戦略と進化” 帯広畜産大学 基礎獣医学研究部門セミナー、帯広、2011 年 1 月.
- Inoue Y: Contact lens-related microbial keratitis. The 25th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology Congress, Beijing, China, 2010/9/16-20.
- 八木田健司、泉山信司、ジアルジアの糞便性抗原は 65 - kDa シスト壁タンパク質由来であるか？ 第 79 回日本寄生虫学会大会、旭川、2010 年 5 月.
- 長安英治、伊藤武彦、小椋義俊、吉田彩子、林哲也、丸山治彦、ベネズエラ糞線虫のゲノム・トランスクリプトーム解析、第 79 回日本寄生虫学会大会（旭川）、2010.
- 長安英治、吉田彩子、丸山治彦、ベネズエラ糞線虫トランスクリプトームシーケンシング、第 18 回分子寄生虫ワークショップ（草津）、2010.
- 長安英治、小椋義俊、伊藤武彦、吉田彩子、林哲也、丸山治彦、第 9 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム（長崎）、2010.
- Eiji Nagayasu, Ayako Yoshida, Haruhiko Maruyama, A bioinformatics approach to identify immunodiagnostic antigens for strongyloidiasis, 8th Asia-Pacific Travel Health Conference, Nara, 2010.
- 長安英治、伊藤武彦、小椋義俊、吉田彩子、林哲也、丸山治彦ベネズエラ糞線虫のゲノム・トランスクリプトーム解析から見えてきたもの、第 4 回蠕虫研究会宮崎、2010.
- Eiji Nagayasu, Yoshitoshi Ogura, Takehiko