

研究分担者 (江下優樹)

・アジア地域でのデング熱、チクングニア熱の流行状況は雨木との関連が大きい。雨期の遅れが媒介蚊の発生動態に影響することを確認した。

研究分担者 (鈴木隆二)

・ウエストナイル熱、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した。

研究分担者 (前田秋彦)

・デング熱、日本脳炎、ウエストナイル熱の鑑別と確定診断のための中空粒子を用いた中和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南アジアの下痢症発生に及ぼす影響解析の方法を確立し、雨量の増加が下痢症患者数を増加させることを示した。

研究分担者 (滝澤剛則)

・富山県において、ヒトスジシマカが高標高域に分布を広げつつあることを明らかにした。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 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。
- (2) 海水中のビブリオ属菌の定量的評価法の技術移転。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (5) アルボウイルス流行地における、感染蚊の迅速モニタリングの現地への技術移転。
- (6) 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。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。
- (7) 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。
- (8) 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

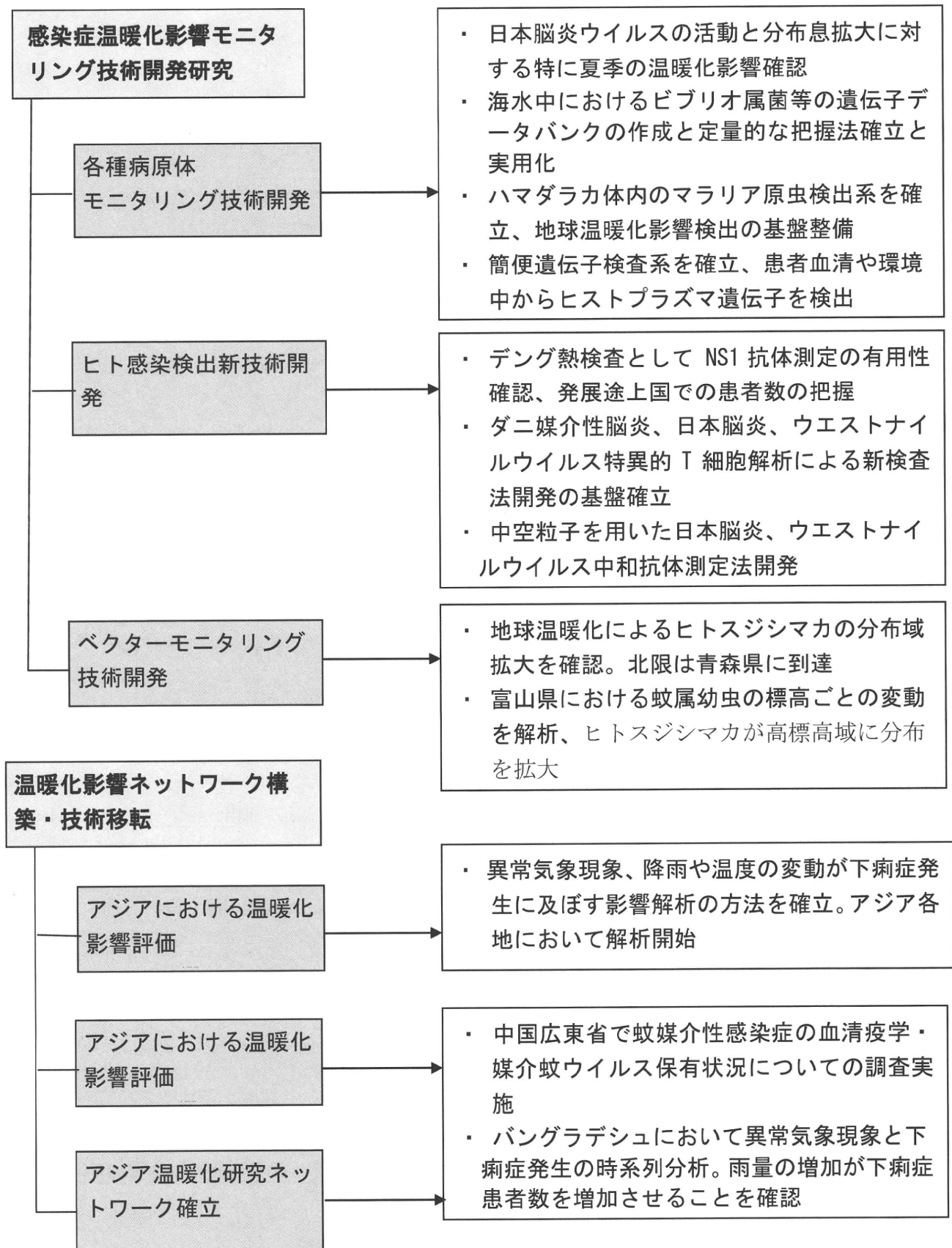
- (1) ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症の温暖化影響把握のための環境モニタリング調査法のマニュアル作成。
- (2) 温暖化影響を国内及びアジア各国において予測するためのネットワークシステムの構築。
- (3) 温暖化による感染症影響に対する適応策策定のための科学基盤の提供。

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.* 38:1697-1699, 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, Miyazaki Y. et al. 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(3年間の研究成果)の概要図等

研究 成 果



●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 - 平成22年9月30日：
 国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長
 平成22年4月1日 - 現在：
 国立感染症研究所 副所長

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

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	小西英二准教授

・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 317編、和文論文 130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.: The emerging and forecasted effect of climate change on human health. *Journal of Health Science.* 55(6): 865-869, 2009.
- 4) Kurane, I., Kotaki, A. and Takasaki, T.: Vector-borne infectious diseases and climate change. *Global Environmental Research.* 12(1): 35-40, 2008.
- 5) Kurane, I.: Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 30(5-6):329-340. 2007
- 6) Oya, A. and Kurane, I.: Japanese encephalitis for a reference to international travelers. *Journal of Travel Medicine.* 14(4):259-268, 2007

・平成23年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究 (23211301)

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

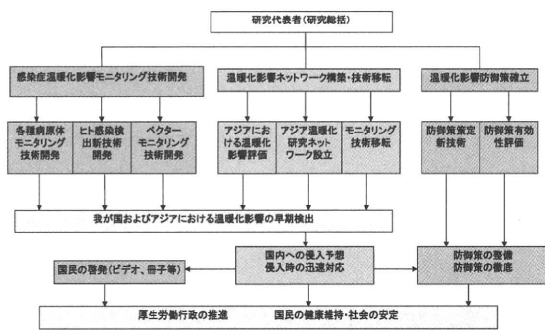
国立感染症研究所ウイルス第一部

研究の目的

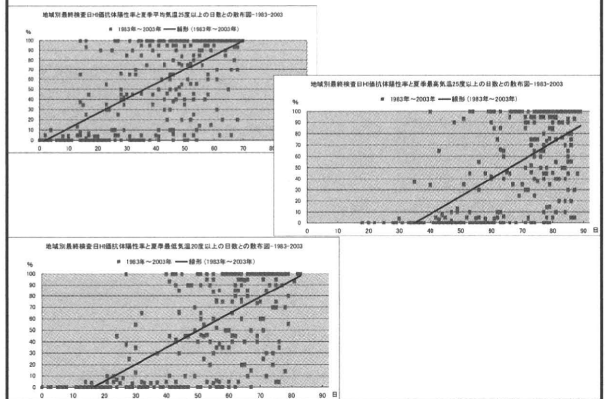
地球温暖化が感染症に及ぼす影響を早期に検出し、地球温暖化に伴う感染症の被害を防止するためのモニタリングのための基盤技術の確立を行なう。

- 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)

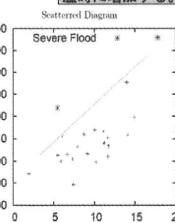


バングラデシュにおける異常気象現象と下痢症発生時系列分析 (我妻ゆき子)

	Cold threshold (t _c , °C) (95% CI)	Percentage increase per °C decrease below cold threshold (95% CI) ^a	Heat threshold (t _h , °C) (95% CI)	Percentage increase per °C increase above heat threshold (95% CI) ^a
All case	-	32 (0.9-53)	-	-
Cardiovascular	30 (24, 37)	9.9 (2.9-17.4)	30 (29, 32)	62.9 (23.2, 115.2)
Respiratory	25 (22, 27)	175 (81-27.6)	-	-
Perinatal	21 (20, 27)	296 (12.9-48.7)	-	-
Infectious	-	-	-	83.4 (0.2, 255.8) ^d

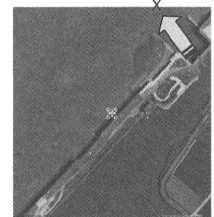
使用した気象水文学的データと患者データ

class	variable	parameter	month	area
Class 1	NIÑO3	SST	DJF	5°S-5°N, 150-90°W
Class 2	THI	geopotential height	JJAS	20-40°N, 60-120°E
	MHI	meridional wind shear	JJAS	10-30°N and 70-110°E
Class 3	R _t	rainfall	June to October	Northeast India
	d	river discharge	June to October	Bangladesh
Class 4	R	rainfall	June to October	Dhaka
Class 5	P	number of patients	ASO	Dhaka



ビブリオ属菌を対象とした食水細菌感染症と環境モニタリングに関する研究: V. cholerae分離株の解析 (泉谷秀昌)

- 隣接する淡水域(緑)と汽水域(赤)からの V. cholerae分離株をPFGEによって比較。
- 淡水域の株は多くの型から成っていた。
- 一方、汽水域の株は淡水域の株の一部に含まれることがわかった。



降雨などの気候変動の影響を受け、淡水域の一部の菌が汽水域に侵入している可能性が示唆された。ビブリオ属菌の生息領域にはそれぞれの特徴があり、それらをより詳細に把握することで環境要因との関連性がより明らかになっていくものと考えられる。



環境の変化による病原真菌の動態と
深在性真菌症との発病に関する解析(宮崎義継)

「背景と目的」

内臓真菌症には地域性がある。
(高病原性真菌は環境依存度が高い)
↓
気候変動により、新たにわが国で発生する
可能性が高い真菌症への対策。

「研究内容」

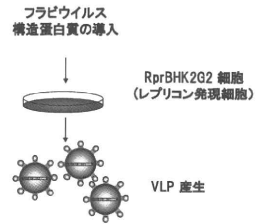
- 分子疫学手法による日本における
ヒストプラズマ属の生息可能性の検討
- ヒストプラズマ症流行地域での感染源
についての調査研究
- ヒストプラズマ症診断系の臨床応用
に関する検討

「成果」

- 従来、わが国には生息しないとされて
いる*Histoplasma capsulatum*について、
本菌と考えられる遺伝子を国内土壌から
検出し、生息の可能性が示された。
- タイにおけるヒストプラズマ症の流行
地域においてヒストプラズマ属の生息
調査の結果、コウモリの堆積糞を含む
土壌が感染源に深く関わっていることが
示された。
- 過去2年間において我が国でヒスト
プラズマ症が疑われる7症例について
検討した結果、5例が本症であることを
確認し、患者数が年々増加傾向にある
ことを示した。

中空粒子を用いた日本脳炎、ウエストナイルウ
イルス中和抗体測定法開発(前田秋彦)

ウイルス様粒子(VLP)の作製
に必要なウイルスのレプリコン
を持続的に発現する細胞
(RprBHK2G2)を作製した。本
細胞にフラビウイルスのレプリ
コンを導入することでVLPが作
製できた。感染性ウエストナ
イルウイルスを用いない中和法と
して利用できる。



各種蚊における日本脳炎ウイルス増殖能の評価(小林睦生)

蚊由来JEV(長崎/37/2005, 10⁶コピー/ml)を国内の主要な蚊種に経口感染し、27-28℃で維持した
→ 各5頭以上の感染蚊から定量PCRによりJEV遺伝子のコピー数を算出した
→ 間接蛍光抗体法により、各組織におけるJEVの局在を観察した

組織	1 - 4日			8 - 14日			22 - 29日		
	SG 唾液腺	MG 中腸	Others*	SG	MG	Others*	SG	MG	Others*
コガタアカイエカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
アカイエカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
チャイエカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ヒトスジシマカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
キンイロヤブカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ヤマトヤブカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
オオクロヤブカ	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ネッタインマカ (国内には生息しない)	■	■	■	■	■	■	■	■	■

■ >10,000 (コピー数/組織) ■ 5,000 -10,000 ■ 1,000 -5,000 ■ 500 -1,000 ■ 100 -500 ■ <100 NT

間接蛍光抗体法で観察されたコガタアカイエカ唾液腺内のJEV

*Othersは、唾液腺(SG)、中腸(MG)を取り除いた残りのすべて

研究成果まとめ

感染症温暖化影響モニタリング技術開発研究	<ul style="list-style-type: none"> ・日本脳炎ウイルスの活動と分布拡大に対する特に夏季の温暖化影響確認 ・海水中におけるビブリオ属等の遺伝子データバンクの作成と定量的な把握法確立と実用化 ・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、患者血液や環境中からヒストプラズマ遺伝子を検出
各種病原体モニタリング技術開発	
ヒト感染検出技術開発	
ベクターモニタリング技術開発	<ul style="list-style-type: none"> ・デング熱検査として NS1抗体測定の有効性確認、発展途上国での患者数の把握 ・ダニ媒介性脳炎、日本脳炎、ウエストナイルウイルス特異的T細胞解析による新検査法開発の基盤確立 ・中空粒子を用いた日本脳炎、ウエストナイルウイルス中和抗体測定法開発
温暖化影響ネットワーク構築・技術移転	<ul style="list-style-type: none"> ・地球温暖化によるヒトスジシマカの分布域拡大を確認。北限は青森県に到達 ・富山県における蚊幼虫の標高ごとの変動を解析、ヒトスジシマカが高標高域に分布を拡大
アジアにおける温暖化影響評価影響評価	<ul style="list-style-type: none"> ・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。アジア各地において解析開始
アジア温暖化研究ネットワーク確立	
モニタリング技術移転	<ul style="list-style-type: none"> ・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 ・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。雨量の増加が下痢症患者数を増加させる。

平成22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：顧みられない病気に関する研究課題番号：H20-新興一般-016予定機関：H20年度からH22年度研究代表者：野崎 智義所属研究機関：国立感染症研究所所属部局：寄生動物部職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：

1年目 50,800,000円 2年目 45,720,000円 3年目 45,720,000円 計 142,240,000円**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、エキノコックスの特異的呼吸鎖の解明、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

III. 3年間の研究成果

- ・研究代表者(野崎智義)
赤痢アメーバ分離株の型別確立とトランスクリプトーム解析による病原性遺伝子同定・機能解明
- ・研究分担者(濱野真二郎)(注：pathogen-associated molecular pattern)
赤痢アメーバの炎症性サイトカイン誘導 PAMPs の存在の証明、新種の病原性アメーバの発見
- ・研究分担者(小林正規)
赤痢アメーバ症集団感染が見られた知的障害者施設の追跡調査。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の作成。キットに応用可能な単クローン抗体作成
- ・研究分担者(井上幸次)
コンタクトレンズ装用者の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構築。アカントアメーバの遺伝子型別法を確立。
- ・研究分担者(三田村俊秀)
マラリア原虫の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子が蚊から人への感染に重要であることを証明
- ・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 の抑制的作用と宿主調整因子注入機構を発見
- ・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遺伝子発現解析により耐性候補遺伝子を特定
- ・研究分担者(丸山治彦)
糞線虫とブタ回虫のトランスクリプトーム解析により、感染型幼虫の診断抗原候補を同定
- ・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
- ・研究分担者(北 潔)：
エキノコックス幼虫の主要な呼吸系(NADH-フマル酸還元系)を同定、複合体各サブユニットの分離・同定阻害剤キナゾリン系化合物を発見。
- ・研究分担者(山崎浩)
幼虫移行症(イヌ・ネコ回虫、マンソン狐虫)迅速診断キットを実現。裂頭条虫の遺伝子鑑別法を確立
- ・研究分担者(杉山広)
肺吸虫診断キットを作製・評価。アニサキス種のマルチプレックス PCR 鑑別法を確立
- ・研究分担者(森嶋泰之)
異形吸虫科吸虫 3 種を鑑別するマルチプレックス PCR 鑑別法を開発、国内での発生状況を把握
- ・研究分担者(朝日博子)
日本住血吸虫感染者の尿・血清中の抗体の陽性率・治療後消長を解析。免疫診断法(ICT)の作成
- ・研究分担者(大前比呂思・千種雄一)
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. 今後考えられる新たな課題

- (1) 腸管原虫症・アカントアメーバ症の継続的な発生動向調査、分離株の型別、生物学的性状分析
- (2) キット化が途中のジアルジア症・住血吸虫症、及び、キット化が未挑戦の繊毛虫・アニサキス症等の免疫診断の確立・検証、位置づけの明示

- (3) 作成された免疫診断法(ジアルジア症・肺吸虫症等)、型別法の臨床例での継続的評価、動向調査。
- (4) 赤痢アメーバ・アカントアメーバ等の病原性機構の統合的解明。薬剤耐性機構の解明
- (5) 新種腸管アメーバの病原機構の解明。PAMP・レクチンを介するに免疫応答、病態形成の解明
- (6) トキソプラズマ等の感染における宿主調節因子注入機構の解明と治療法開発への応用
- (7) NTD原因原虫等の病原機構・薬剤耐性の理解の迅速化を可能とする遺伝学手法の開発
- (8) 糞線虫・ブタ回虫の幼虫特異的タンパク質の機能解析、診断抗原としての有用性の検討
- (9) エキノコックス呼吸鎖の阻害剤探索とロドキノン生合成経路の解明

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、アカントアメーバ角膜炎、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)

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

Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. (2010) Metabolome analysis revealed increase in S-methylcysteine and phosphatidylisopropanolamine synthesis upon L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *J. Biol. Chem.* published October 5, 2010 as doi:10.1074/jbc.M110.167304.

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.* 59, 75-81.

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.*, 106, 21731-21736.

Picazari, K., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2008) Autophagy during proliferation and encystation in the protozoan parasite *Entamoeba invadens*. *Inf. Immunol.* 76, 278-288.

(濱野 真二郎)

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: 833-43, 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: 1150-7, 2010.

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)

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 *Ascaris suum* mitochondrial complex II. *Mitochondrion*, 10, 158-165, 2010

Mogi, T., Ui H., Shiomi, K., Omura, 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., Omura, 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

Osana, A., Harada, S., Sakamoto, K., Shimizu, H., Inaoka, D. K., and Kita, K. (2009) Crystallization of mitochondrial rholoquinol-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

(丸山 治彦)

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.* 2010, in press

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*, in press

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* 73:1344-8, 2009

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 toxocarosis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitol Int* 57:525-9, 2008

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 Med J* 49: 119-129.

(中西 憲司)

Nakanishi, K. Basophils as APC in Th2 response in allergic inflammation and parasite infection. *Curr Opin Immunol* 2010 In press

Nakanishi, K. Basophils are potent antigen-presenting cells that selectively induce Th2 cells. *Eur J Immunol.* 40: 1836-1842, 2010.

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

Andoh, T., Kishi, H., Motoki, K., Nakanishi, K., Kuraishi, Y. and Muraguchi, A. (2008) Protective Effect of IL-18 on Kainate- and IL-1{beta}-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

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* 2010 59, 75-81.

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)
- 稲葉昌丸、井上幸次、植田喜一、宇野敏彦、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炎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
- 井上幸次：特集「眼感染症 Now！」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 50-52, 2009
- 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
- *下村嘉一：C L 関連角膜炎感染症全国調査。「*眼科プラクティス* 28 眼感染症の謎を解く」大橋裕一編 p356, 文光堂, 東京, 2009.
- 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.
- (永宗喜三郎)
- 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 4489: 39-43, 2009
- 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, 2009
- Hirakawa, Y., Nagamune, K., and Ishida, K. "Protein targeting into secondary plastids of chlorarachniophytes." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 12820-5, 2009
- Nagamune, K., Xiong, L., Chini, E.N., and Sibley, L.D. "Plant, endosymbionts and parasites, Abscisic acid and calcium signaling." *Comm. Integ. Biol.*, 1, 62-65, 2008
- (津久井久美子)
- Yousuf, M. A., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2010) Localization and targeting of unusual pyridine nucleotide transhydrogenase in *Entamoeba histolytica*. *Eukaryot. Cell* 9, 926-933.
- Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Husain, A., and Nozaki, T. (2010) 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)
- 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.
- Picazarrí, K., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2008) Autophagy during proliferation and encystation in the protozoan parasite *Entamoeba invadens*. *Inf. Immun.* 76, 278-288.
- Maralilkova, 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 比呂恵)
- Kirinoki M, Chigusa Y, Ohmae H, Sinuon M, Socheat D. Efficacy of sodium metaperiodate (SMP)-ELISA for the serodiagnosis of schistosomiasis mekongi. *Southeast Asian J Trop. Med. Public Health.* (in press)
- Ishikawa H, Ohmae H. Modelig the dynamics and control of transmissshion of *Schistosoma japonicum* and *S. mekongi* in Southeast Asia. *Korean J Parasitol.* 47:1-5, 2009
- 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.* 2010 (in press)
- Asahi, H., *Plasmodium falciparum*: Chemically defined medium for continuous intraerythrocytic growth using lipids and recombinant albumin. *Exp Parasitol.* 121, 22-28, 2009.
- 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. *Exp Parasitolo.* 121, 144-150, 2009.
- 特許出願準備中：日本住血吸虫症の免疫診断に有用な人工合成蛋白, 2011
- (山崎 浩)
- Yamasaki, H. and Kuramochi, T. A case of *Diphyllbothrium nihonkaiense* infection possibly linked to salmon consumption in New Zealand. *Parasitol. Res.* 105: 583-586, 2009.
- Mercado, R., Yamasaki, H., Kato, M, Munoz, V, Sagua, H, Torres, P, Castillo, D. Molecular identification of the *Diphyllbothrium* species causing diphyllbothriasis in Chilean patients. *Parasitol. Res.* 105: 583-586, 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. *Parasitol. Res.* 107: 1003-1007, 2010.
- 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, P.M., 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
- (杉山 広)
- Umehara, A., Kawakami, Y., Ooi, H.-K., Uchida, A., Ohmae, H. and *Sugiyama, H. Molecular identification of Anisakis type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. *Int J Food Microbiol* 143, 161-165, 2010.
- Takamiya, S., Fukuda, K., Nakamura, T., Aoki, T. and Sugiyama, H. *Paragonimus westermani* possesses aerobic and anaerobic mitochondria in different tissues, adapting to fluctuating oxygen tension in microaerobic habitats. *Int J Parasitol* 40, 1651-1658, 2010.
- Singh, T.S., Khamo V. and Sugiyama, H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculosis: First case report in India. *Tropical Parasitology*, 1, 39-41, 2011.
- 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
- (森嶋 康之)
- Yu SH, Wang H, Wu XH, Ma X, Liu PY, Liu YF, Zhao YM, Morishima Y, and Kawanaka M. Cystic and alveolar echinococcosis: an epidemiological survey in a Tibetan population in southeast Qinghai, China. *Jpn J Infect Dis* 61, 242-246, 2008.

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果) の概要図等

具体的成果

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的多様性発見(野崎) トランスクリプトーム解析による病原関連遺伝子発見・機能解析(野崎) メトロニダゾール耐性株の確立・交叉耐性の検証(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・機能解明(三田村) 宿主GPIの細胞侵入・増殖抑制効果の解明(永宗) <p>線虫の病原機構</p> <ul style="list-style-type: none"> 糞線虫・ブタ回虫のゲノム・EST解析により、幼虫移行に重要な遺伝子を抽出、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"> 炎症性サイトカインを誘導する分子・パターンの同定、非病原性アメーバとの質的差異を証明(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スの呼吸鎖の構成・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、構成因子を解明(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>ジアルジア症</p> <ul style="list-style-type: none"> 糞便中虫体検出用のラテックス凝集試薬を作成 新規検出系作出に必要な単クローン抗体作成(八木田) <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種のイムノクロマト法診断キットを作成(杉山) <p>日本住血吸虫症</p> <ul style="list-style-type: none"> 感染者の尿・血清中各種抗体の陽性率・治療後消長解析 組換え抗原のB細胞エピトープを決定(朝日) 虫卵抗原ELISA抗体価で臨床病型を鑑別(大前) 	<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cantアメーバ角膜炎</p> <ul style="list-style-type: none"> アcantアメーバのミトコンドリア遺伝子型別法を確立(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)

寄生虫症発生動向の調査

赤痢アメーバ症

- 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)

アcantアメーバ角膜炎

- 全国9カ所の拠点施設を利用したアcantアメーバ角膜炎のアンケート調査(井上)

幼虫移行症・肺吸虫

- 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)

厚生行政への貢献

- 診断・型別の標準化
ガイドラインの策定
- サーベイランス
の構築
- 国内の寄生虫感染症
研究グループの育成

○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：H1-7NIAID, 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(92、うち総説8、責任著者51；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

- Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Ali, V., Suematsue, M., Soga, T., and Nozaki, T. (2010) Two Atypical L-cysteine-regulated NADPH-dependent oxidoreductases involved in redox maintenance, L-cystine reduction, and metronidazole activation in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. **J. Biol. Chem.**, 285, 26889-26899.
- Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. (2010) Metabolome analysis revealed increase in S-methylcysteine and phosphatidylisopropanolamine synthesis upon L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. **J. Biol. Chem.** published October 5, 2010 as doi:10.1074/jbc.M110.167304. (in press)
- Yousuf, M. A., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2010) Localization and targeting of unusual pyridine nucleotide transhydrogenase in *Entamoeba histolytica*. **Eukaryot. Cell** 9, 926-933.
- Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Husain, A., and Nozaki, T. (2010) 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)
- 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. (2010) Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine to the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. **Int. J. Antimicrobial Agents** 35, 56-61.
- Maralikova, B., Ali, V., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., van der Giezen, M., Henze, K., and Tovar, J. (2010) Bacterial-type oxygen detoxification and iron-sulphur cluster assembly in amoebal relict mitochondria **Cell. Microbiol.** 12, 331-342.
- 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.** 59, 75-81.
- 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.** 170, 100-104.
- 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.**, 106, 21731-21736.
- 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**, 61, 1019-1028.
- 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.
- 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 γ -lyase 1 from *Entamoeba histolytica*. **Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.** 64, 697-699, 2008.
- Picazarrri, 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.
- Picazarrri, 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.

顧みられない病気に関する研究 (H20-新興-一般-016)

H20-22年度厚生労働省科学研究補助金
インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

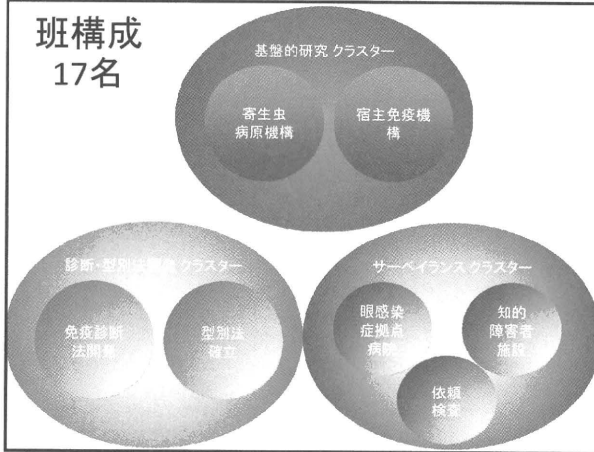
国立感染症研究所 野崎智義

Neglected Diseases研究の必要性

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

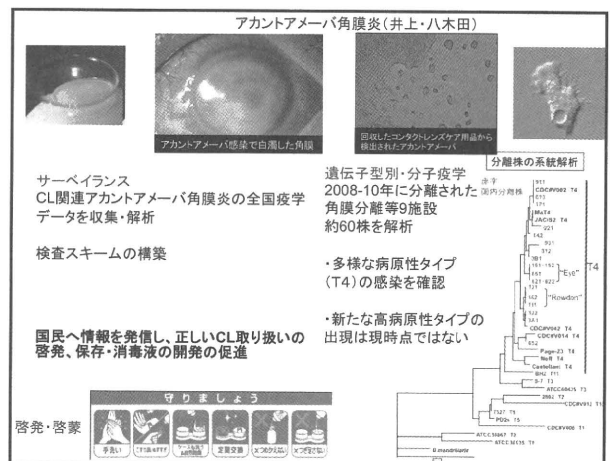
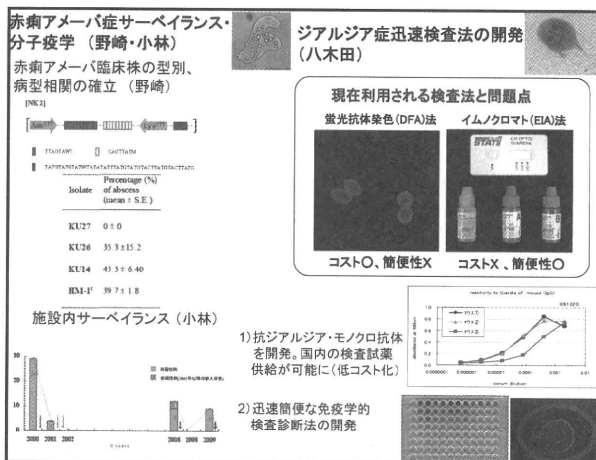
班構成 17名



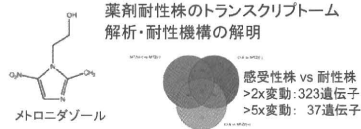
原虫・蠕虫

II. 研究の目的、期待される成果(病原体別まとめ)

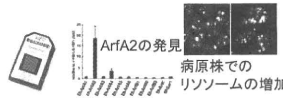
- (1) アカントアメーバ・赤痢アメーバ・ジアルジア等のタイピング法・サーベイランスシステムの構築
- (2) 赤痢アメーバ原虫の病原性・感染抵抗性・薬剤耐性の分子基盤の構築
- (3) マラリア原虫の特異的脂質代謝とトキソプラズマの感染機構の解明
- (4) 糞線虫・回虫等の体内移行の機構の解明、エキノコックスの特異的呼吸鎖の解明、糞線虫の排虫機構の解明
- (5) イヌ回虫等幼虫移行症・肺吸虫症・住血吸虫症などの簡易血清診断キットの確立・評価
- (6) アニサキス・異型吸虫等の遺伝子型別法の確立



赤痢アメーバ病原機構と薬剤耐性の分子機構 (野崎/津久井)

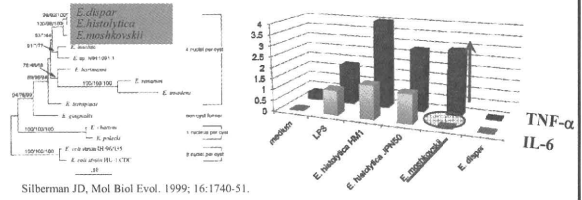


赤痢アメーバの病原株・非病原株の比較 (野崎)
トランスクリプトームの確立
病原性因子の同定・機能解析



- メトニダゾール活性化に関する分子の発現は変化しない。(PFOR) (先行実験の再現)
 - ストレス応答に関与する遺伝子、特にシステイン除去による酸化ストレス応答と相同の変化発現の変化が起きている。(シャペロン、BspAタンパク質) (本研究からの知見)
- Husain et al J Biol Chem 2010

宿主免疫応答の解析 新しい病原Entamoebaの発見 炎症性サイトカインを誘導する種特異的PAMPsの同定 (濱野)



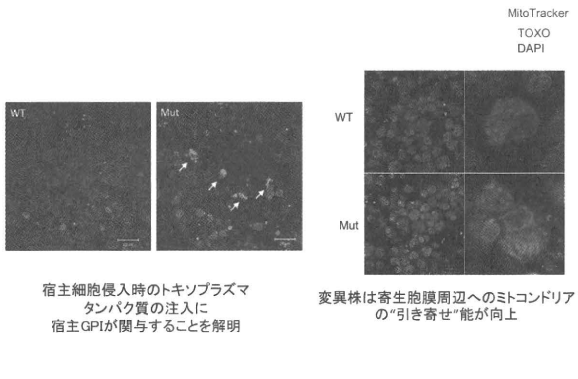
サイトカイン	TNF-α	IL-6	MyD88 病原 PAMPs 依存性	性
<i>E.histolytica</i>	○	○	○	○
<i>E.moshkovskii</i>	○	X	○	○
<i>E.dispar</i>	X	X	X	X

E. moshkovskii はモデル動物で病原性を示した

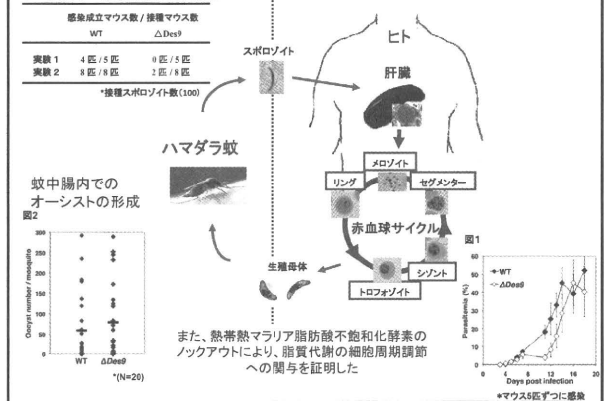
図形便 11/30
軟便 17/30
粘血便 2/30

42 匹中30 匹 (70%) のCBA マウスで感染成立
19 / 30 匹 (60%) のマウスで消化管症状!!

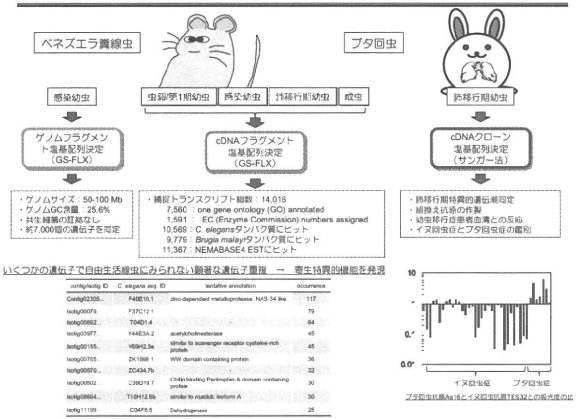
寄生虫病原機構の解明 トキソプラズマ侵入機構 (永宗)



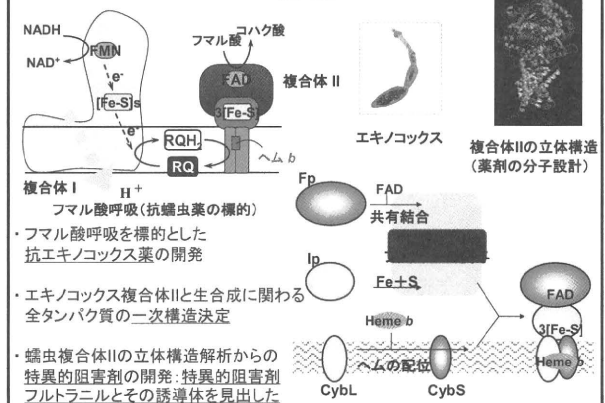
寄生虫病原機構の解明 ヒト・ネズミマalaria原虫におけるstearyl-CoA desaturase (Des9) の役割の解析 表1 マウスへの感染成立の有無



蠕虫遺伝子発現制御機構の解明および寄生虫診断法の開発 (丸山)



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 (北 潔)



Ⅲ. 3年間の研究成果(原虫症:研究者別まとめ)

- ・研究代表者(野崎智義)
- 赤痢アメーバ分離株の型別確立とトランスクリプトーム解析による病原性遺伝子同定・機能解明
- ・研究分担者(濱野真二郎)(注: pathogen-associated molecular pattern)
- 赤痢アメーバの炎症性サイトカイン誘導PAMPsの存在の証明、新種の病原性アメーバの発見
- ・研究分担者(小林正規)
- 赤痢アメーバ症集団感染が見られた知的障害者施設の追跡調査。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の作成。キットに応用可能な単クローン抗体作成
- ・研究分担者(井上幸次)
- コンタクトレンズ着用者の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構築。アカントアメーバの遺伝子型別法を確立。
- ・研究分担者(三田村俊秀)
- マラリア原虫の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子が蚊から人への感染に重要であることを証明
- ・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の抑制的作用と宿主調整因子注入機構を発見
- ・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遺伝子発現解析により耐性候補遺伝子を特定

Ⅲ. 3年間の研究成果(蠕虫症-基礎研究:研究者別まとめ)

- ・研究分担者(丸山治彦)
- 糞線虫とブタ回虫のトランスクリプトーム解析により、感染型幼虫の診断抗原候補を同定
- ・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
- ・研究分担者(北 潔):
- エキノコックス幼虫の主要な呼吸系(NADH-フマル酸還元系)を同定、複合体各サブユニットの分離・同定阻害剤キナゾリン系化合物を発見

Ⅲ. 3年間の研究成果(蠕虫症診断法・型別:研究者別まとめ)

- ・研究分担者(山崎浩)
- ・幼虫移行症(イヌ・ネコ回虫、マンソン狐虫)迅速診断キットを実現。裂頭条虫の遺伝子鑑別法を確立
- ・研究分担者(杉山広)
- ・肺吸虫診断キットを作製・評価。アニサキス種のマルチプレックスPCR鑑別法を確立
- ・研究分担者(森嶋泰之)
- ・異形吸虫科吸虫3種を鑑別するマルチプレックスPCR鑑別法を開発、国内での発生状況を把握
- ・研究分担者(朝日博子)
- ・日本住血吸虫感染者の尿・血清中の抗体の陽性率・治療後消長を解析。免疫診断法(ICT)の作成
- ・研究分担者(大前比呂思・千種雄一)
- ・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

平成 22 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：感染症情報国民コールセンター設置と実施に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-017

予定期間：H20 年度から H22 年度まで

研究代表者：菅又昌実

所属研究機関：特定非営利活動法人 バイオメディカルサイエンス研究会（公立大学法人
首都大学東京）

所属部局：国際協力部門、情報収集・広報部門（大学院人間健康科学研究科）

職名：理事（教授）

年次別研究費（交付決定額）：

1 年目 34,000,000 円 2 年目 30,600,000 円 3 年目 15,300,000 円 計 79,900,000 円

I. 研究の意義

- (1) 医学専門領域とマスコミとによる感染症情報提供の中間に位置する適正な情報提供システムの構築。
- (2) 国民レベルのニーズに応える相談体制の構築と運用による流行時の国民の適正な行動の促進。
- (3) パンデミック発生時の被害最小化に貢献する予防的な公衆衛生学的活動の根幹としての機能。
- (4) コールセンター機能の標準化による国・自治体間対応の質の格差の是正。
- (5) 新興・再興感染症の総合的相談体制の構築と運用による持続的な危機管理体制としての機能。

II. 研究の目的、期待される成果

目的

- (1) 様々な通信媒体による適正な感染症情報を国民に提供すること。
- (2) そのための標準化相談対応マニュアルを作成すること。
- (3) コールセンター構築・改良を目指す自治体における相談体制の標準化を促進すること。
- (4) 実用的運用開始を 2010 年度として体制構築を行う。

成果

- (1) 新型インフルエンザ対応マニュアル（発熱等の臨床症状を含む相談マニュアル）作成。
- (2) 新型インフルエンザ対応マニュアル（コールセンター構築・改良を目指したマニュアル）作成。
- (3) 危機管理上優先度の高い新興・再興感染症対応相談マニュアル作成。
- (4) 標準化マニュアルを基幹とした相談体制の国と自治体による擦り合わせと相互ネットワーク構築と情報の共有と活用。
- (5) パンデミック発生時の被害最小化に貢献する予防的な公衆衛生学的活動の根幹としての機能。
- (6) 日本と東南アジア圏における新興・再興感染症の予防、及び流行最小化のための互惠ネットワーク形成の基礎となる。

Ⅲ. 3年間の研究成果

・研究代表者（菅又昌実）

- (1) 全国 47 都道府県における新型インフルエンザ対策の準備状況を、H1N1 インフルエンザの国内初侵入例以前、及び国内感染例発生後、および患者の全数把握期間とについて比較検討し自治体住民への対応状況の充実度を調査した。
- (2) 全国自治体における住民への情報提供と相談体制を知るために、新型インフルエンザ対策状況について、行動計画と情報提供という 2 項目に分け、そこから直接相談窓口で電話で問い合わせが出来るように一つのファイルを作成し(上記の 3 期間)、全国自治体に電子ファイルとして配布した。
- (3) コールセンターによる情報提供と、相談への対応を行うために、ホームページをデザインし、また電話による相談への回答のための応対用のソフトプログラムを作成した。
- (4) (3)を運用するためのハード機器として、ホームページや応対プログラムを組み込んだサーバーを設計完成させた。
- (5) (4)を実際に試行するためのオペレーター養成マニュアルを作成し、オペレーター候補要員を雇用、育成準備が整った。
- (6) 実際のコールセンター運用の試行を行うためのオフィスを確保し、コールセンター機能の整備を持つモデルオフィスを首都大学東京プロジェクト研究棟に設置し、2010年4月6日より試行運用を開始した。同時にその使い勝手についての改良も着手している。
- (7) 自治体感染症対策シンポジウムを首都大学東京国際交流会館で実施した。自治体住民への感染症啓発事業として、本研究成果の必要性の確認と具体的なニーズと対応方法とについて討論を行った。
- (8) 将来の東南アジアとの連携による新興・再興感染症対策の実施を目指して、ベトナム国立フェエ大学、同医学部、同附属病院との協定を 2010 年 7 月に結んだ。これにより、共同研究とベトナムの若手研究者の育成を開始する体制が整備された。

・研究分担者（清水一史、吉川泰弘、大田伸生、矢野一好）

- (9) ホームページ、および応対ソフトに使用する情報として、研究の 2 年度目には 12 種の新興・再興感染症を対象として、また最終年度には新たに 35 の感染症を加え合計 47 の感染症を対象として、その概要と優先度の高い Q&A を作成した。

・研究分担者（鈴木哲、松井岳巳）

- (10) ホームページの設計、および応対ソフトの開発とハード機器への組み込み等を、業務委託先のフジツウソーシャルサイエンスラボラトリを主導しつつシステムを完成し、モデルオフィスの構築と機能維持を行っている。

Ⅳ. 今後考えられる新たな課題

- (1) 原型をほぼ完成させた“感染症情報国民コールセンター”を、研究段階から実用段階へと機能を継続させる国家の感染症啓発のための組織として運用するのかどうかを明確にする必要がある。
- (2) 新興・再興感染症の輸入国にあたる我が国において、効果的な感染症対策の戦略的な基本は東南アジアにおいても同レベルの感染症対策を保有し互恵関係を確立維持することこそ重要であ

り、近い将来この観点に立脚したコールセンターを含む総合的な感染症対策の確立と普及とが急務である。

V. 行政施策への貢献の可能性

本研究で目指す新興・再興感染症に対する情報提供システムを構築することにより、いつでも、どこからでも、どのような手段でも誰もが標準化された情報を得るというシステムは、感染症に対する行政対応上、少なくとも3つの利点がある。

- (1) 第1に、少数の情報提供拠点によるアクセスの集中による情報提供不能などの破綻を防止できる。
- (2) 第2に、国民が自ら情報を求める場合の有用な道具として利用されることにより、個人レベルでの感染症に対峙する基本姿勢が高まる。
- (3) 第3に、地域による情報格差を無くすことが可能となる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者:菅又昌実

研究分担者:清水一史、小船富美夫、吉澤重克、

研究協力者:吉田靖子、矢野一好、松井岳巳、會田雅樹、鈴木哲

- (1) 菅又昌実「正しく恐れる」ための情報提供とは 感染症情報国民コールセンター発足の取り組み
セキュリティ研究 2009
- (2) 菅又昌実、清水一史、小船富美夫、吉澤重克、吉田靖子、松井岳巳、會田雅樹、鈴木哲 感染症国民
コールセンター設置と実施に関する研究—第1報— 日本公衆衛生学会誌 2009
- (3) 吉田靖子、林志直、矢野一好、前田秀雄、藤田竹盛、矢田修、松井岳巳、會田雅樹、鈴木哲、吉澤重
克、菅又昌実
室内空気中の微生物存在様式と呼吸器を介する感染症予防方法についての研究 日本公衆衛生学
会誌 2009
- (4) 吉田靖子、菅又昌実 都道府県における新型インフルエンザ相談体制一覧 2009 (1)H1N1 侵入前
- (5) 吉田靖子、菅又昌実 都道府県における新型インフルエンザ相談体制一覧 2009 (2)H1N1 侵入後
- (6) 吉田靖子、菅又昌実 都道府県における新型インフルエンザ相談体制一覧 2009 (3)患者全数把握
期間中

VII. III (3年間の研究成果)の概要図等

ホームページデザイン作成

電子カルテ作成等医学領域のIT企業13社より、株式会社富士通ソーシャルサイエンスラボラトリ(富士通)を選抜し、感染症情報を搭載するホームページの設計を行った。一般人になじみやすく、かつ専門家の利用にも耐える配色とデザインを考慮しデザイン作成した。

相談業務のためのソフトプログラムの設計

富士通と協議しつつ感染症に対する質問に回答するための応対ソフトを設計し、完成させた。また、これを操作するためのオペレーターマニュアルを完成した。現在セキュリティ機能を整備強化し、限定利用者による試行を行う準備を整えた。更に、利用者の属性分析を行う機能として、アクセスカウンター、通

話録音とそのファイル化機能の付与等を行った。

感染症の相談マニュアルを作成する

新型・季節性インフルエンザについて初年度に作成した相談マニュアルのバージョンアップを図ると共に、更に 10 の感染症を 2 年度に、更に 35 の感染症を最終年度に、その概要と相談を作成した。作成された概要、および Q&A、それを基にした相談マニュアルはホームページに掲載した。また、相談マニュアルは相談用対応プログラムに掲載され、既に依頼した試行者により評価を行っている。

運用の基幹要員の育成

対応ソフトによる相談業務の試行を行い、不具合を修正するために対応の基幹となるオペレーター候補を雇用し、作成したオペレーター育成マニュアルにより対応体制が出来、最終年度 4 月より業務を開始している。

相談の試行開始

順次 3 段階に、試行評価を行う外部利用者を 2000 人までにして、ホームページや対応機能の評価と改良を行うこととし、ホームページの内容評価と改良、電話対応による対応システムの評価と改良とを、守秘義務を了承した者約 1000 人以上により、評価を行っている。

自治体の新型インフルエンザ対応システムの網羅的調査

47 の自治体すべてについて、オンライン、及び対面調査で、新型インフルエンザ(H5N1、H1N1)に対する行動計画と住民への啓発事業の実態、直接連絡先を網羅した 1 ファイル完結型の閲覧資料を作成して全自治体に配布した。この調査は、H1N1 侵入前後、患者の全数把握実施期間中の 3 期について、それぞれオンラインによる自治体の準備状況調査を行った。その結果は、各自治体に電子ファイルとして配布した。

新型インフルエンザの相談件数と患者発生の関連性についての調査

H1N1 インフルエンザの輸入例確認から、ヒト-ヒト感染による流行の拡大までの期間について、全国自治体の相談件数と患者発生とについて関連性を検討して、コールセンター運用の際の資料として整理した。概略は、H1N1 の病原性が高くなかったことも一因として、患者総数が増加しても相談件数は増加しないが、自治体により相談件数の増加パターンには地域差が見られた。

法的責任範囲の確認

コールセンター運用後に想定される様々な法的対処が必要な事態が想定されるが、その内容と責任範囲とについて、首都大学東京の法学関係者による調査が続行中である。

●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

[過去に所属した研究機関の履歴]

昭和 50 年 4 月～平成 4 年 3 月 帝京大学医学部衛生学教室

昭和 63 年 7 月～平成 2 年 9 月 米国 NIH、Rockey Mt. Laboratories, Montana (不顕性ウイルス感染症部門)

平成 6 年 9 月～現在 NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会

平成 12 年 4 月～平成 15 年 3 月 東京都立短期大学健康栄養学科衛生学公衆衛生学研究室

平成15年4月～現在

公立大学法人首都大学東京人間健康科学研究科衛生学研究室

・ 主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

大谷明(元国立感染症研究所所長)、北村敬(元国立感染症研究所部長)、甲野禮作(元国立感染症研究所部長)、三浦悌二(元帝京大学教授)、保井孝太郎(元東京都神経科学総合研究所副所長)、D. Carleton Gajdusek (NIH, Bethesda, Director)、Bruce Chezebro (NIH, Rocky Mt. Lab., Director)、Donald L. Lodmell (NIH, Rocky Mt. Lab. Laboratory Chief)

・ 主な研究課題

- ・ 日本脳炎の胎児期感染と生後の感染抵抗性に関する疫学的、実験的検討
- ・ パキスタンにおけるウエストナイルウイルスと日本脳炎ウイルスの侵淫状況に関する血清疫学的検討
- ・ 狂犬病ウイルス強毒株感染による後肢麻痺発生の免疫学的機序に関する実験的研究
- ・ 旧ソ連邦諸国における感染症の疫学的・予防医学的研究
- ・ 大規模災害発生後の感染症発生のメカニズムと予防、及び発生最小化に関する研究
- ・ 東南アジアにおける新興・再興感染症の予防、および流行最小化のための総合的なシステム構築とそのネットワーク形成

・ これまでの研究実績

1. Matsui T, Hakozaki Y, Suzuki S, Usui T, Kato T, Hasegawa K, Sugiyama Y, Sugamata M, Abe S.
A novel screening method for influenza patients using a newly developed non-contact screening system.
J Infect. 2010 Apr;60(4):271-7.
2. Matsui T, Suzuki S, Ujikawa K, Usui T, Gotoh S, Sugamata M, Badarch Z, Abe S.
Development of a non-contact screening system for rapid medical inspection at a quarantine depot using a laser Doppler blood-flow meter, microwave radar and infrared thermography.
J Med Eng Technol. 2009;33(5):403-9.
3. 菅又昌実(分担)バイオセーフティー事典 2008
4. 菅又昌実 監修 DVD 阪神淡路 2008
5. 菅又昌実 災害時における保健・医療活動について 東京都神経難病医療ネットワーク事業 平成18年度報告書 41-65 2008
6. 菅又昌実他 大規模自然災害時における衛生水準の低下と二次災害としての感染症発生について—特に飲料水の安全性確保維持の重要性について
都市科学研究 2007 1:63-70
7. 菅又昌実他 大規模災害を想定した東京都の病院、医科学系研究施設における感染性微生物の封じ込め状況調査 都市科学研究 2007 1:41-51
8. 菅又昌実 災害時に必要な医療支援とは—災害時の感染予防の立場から—
日本保健科学学会誌 2006 (9)3:145-154

9. 菅又昌実 衛生学から見た旅行医学の現状 クリネス 2005 14:1-6
10. 菅又昌実他 健康と環境の科学—人類の明るい未来を目指して 南山堂 2003
総ページ数203
11. 菅又昌実 世界の狂犬病発生状況を知る—情報源としてのオンラインソースRABNETの有効性—
日本獣医師会誌 2001 54:580-585
12. 菅又昌実 エマージング・リエマージングウイルス感染症としての世界の狂犬病
日本獣医師会誌 1998 51:121-126
13. Sugamata M. Paralysis of street rabies virus-infected mice is dependent on T
lymphocytes J.Virology 1992 66:1252-1260
14. Sugamata M. Detection of anti-rabies virus cytotoxic T lymphocytes in mice of
four distinct H-2 haplotypes using target cells persistently infected with ERA rabies
virus J.Virological Methods 1990 29:1-12
15. 菅又昌実他 新編衛生学実習—流行予測 南山堂 1991 196-242

・平成 23 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

※申請している場合は、申請課題名を記載して下さい。

研究課題：新興・再興感染症の予防と、感染者の早期発見と確定診断のために開発した
ツールの総合的的性能評価に関する研究