

きわめて興味深いのは感染 4 日後で、このタイミングでは逆に、ネコ回虫では多数の幼虫を

	<i>T. cati/T. canis</i>	
	Liver	Lungs
4 days	0.086	3.048
14 days	0	0.549
31 days	0	0.200

表 4 イヌ回虫とネコ回虫の回収虫体数の比

肺から回収することができた。回収実験の結果を表 4 にまとめたが、この表から明らかなのは、ネコ回虫感染では幼虫は肝臓を短時間で完全に通り抜け、きわめて速やかに肺に到達していることである。一方イヌ回虫では、多くの幼虫が肺にいる時も一定数の幼虫が肝臓にとどまっている。

さらに、ネコ回虫感染においても 4 日後には肝臓からも幼虫が回収されていることから、感染 14 日後以降にネコ回虫幼虫が肝臓から回収されないのは、肝臓を通らないのではなく速やかに肝臓を離れて肺に到達するからと考えられる。肺から先は回収実験で明らかに示すことはできなかったが、おそらく筋肉や中枢神経系などに分散しているものと考えられる。

以上のような体内移行の違いが人体内でも起こっているとすると、ネコ回虫感染では肝臓に画像上の変化が認められないことが考えられる。実際にいわゆるトキソカラ症の中に、肺と肝臓の両方に異常陰影のある症例と、好酸球性肺炎のみを示す症例が存在し、数としては圧倒的に肺炎のみ示す方が多い。これらの症例がネコ回虫症であるとする証拠はないが可能性は指摘できるであろう。

本研究が示すのは、ネコ回虫感染ブタでは肝臓や腎臓に白点がないために、食肉検査をすり抜けているのではないかという新たな問題点である。ネコ回虫が肺も素早く通り抜けて筋肉内に移行しているとすると、ヒトへの感染源としてきわめて大きな役割を演じている可能性がある。今後、ネコ回虫の遺伝子情報などを整備し、イヌ回虫とネコ回虫の鑑別を進めていく必要がある。

#### E. 結論

どちらもトキソカラ症であるイヌ回虫感染症とネコ回虫感染症の病態の違いを、ブタを用い

た感染実験で明らかにすることができた。ネコ回虫は、感染後素早く肝臓を通り抜け肺に到達し、肝臓に炎症巣を形成しなかった。一方イヌ回虫は肝臓にとどまる時間が長く、強い炎症を引き起こした。臨床病型との関連が疑われた。

#### F. 研究発表

##### 著書

1. 丸山治彦：アニサキス症（今日の治療指針 2013、山口徹、北原光夫、福井次矢編）、pp.262-263、医学書院（東京）（2013 年 1 月 1 日）

##### 総説

1. 丸山治彦、木村幹夫：我が国における寄生虫病・熱帯病薬物治療の実際 日本臨牀 70 (12): 2205-2217, 2012
2. 丸山治彦、名和行文：肺吸虫症と神経系 神経内科学 77 (3): 259-266, 2012
3. 丸山治彦：小児にみられる吸虫症 小児科臨床 65 (3): 384-390, 2012
4. 吉田彩子、長安英治、丸山治彦：動物由来回虫類感染症のわが国における最近の動向 Clinical Parasitology 23: 105-108, 2012

##### 原著論文

1. Nagayasu E, Ogura Y, Itoh T, Yoshida A, Chakraborty G, Hayashi T, Maruyama H: Transcriptomic analysis of four developmental stages of *Strongyloides venezuelensis*. Parasitol Int. 2013 Feb;62(1):57-65.

##### 学会発表

1. Nagayasu E, Ogura Y, Ito T, Yoshida I, Chakraborty G, Hayashi T, Maruyama H: Genome and transcriptome analysis of *Strongyloides venezuelensis*, an animal parasitic nematode. International Symposium on Genome Science “Expanding Frontiers of Genome Science (2013.1), Tokyo, Japan.
2. Nagayasu E, Ishikawa S, Taketani S, Chakraborty G, Yoshida A, Inagaki, Y, Maruyama H: Bacteria-like ferrochelatase in animal parasitic nematodes. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity (2012.9), Awaji, Japan.

3. Yoshida A, Nejsum P, Skallerup P, Thamsborg SM, Maruyama H: Serological diagnosis of Ascarid Visceral Larva Migrans with recombinant antigens. ESCCAP Toxocara 2012, 3-5 October 2012, Budapest
4. Yoshida A, Poulsen CS, Skallerup P, Maruyama H, Thamsborg SM, Nejsum P: Migratory pattern of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* in pigs. ESCCAP Toxocara 2012, 3-5 October 2012, Budapest
5. 吉田彩子、辻尚利、山崎浩、丸山治彦：ブタ回虫血症血清診断抗原候補分子としてのリコンビナント As16 の有用性 第 65 回日本寄生虫学会南支部大会・第 62 回日本衛生動物学会南支部大会 合同大会、2012 年 11 月 10 - 11 日、長崎市
6. 長安英治、丸山治彦：線虫類における動物寄生関連遺伝子の探索. 第 20 回分子寄生虫ワークショップ (2012.8) , 神戸市
7. 長安英治、小椋義俊、伊藤武彦、吉田彩子、林哲也、丸山治彦：ゲノム概要配列が未知の寄生虫研究における次世代型シーケンサの活用方法. 第 10 回日本寄生虫学会東日本支部会、第 10 回分子寄生虫マラリアフォーラム合同大会 (2012.10) , 前橋市
8. 長安英治、丸山治彦：ゲノム/トランスクリプトーム情報に基づく動物寄生関連遺伝子の探索. 第 10 回日本寄生虫学会東日本支部会、第 10 回分子寄生虫マラリアフォーラム合同大会 (2012.10) , 前橋市

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案特許  
なし
3. その他  
なし

地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

「寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめざした研究」

研究協力者 報告書

住血吸虫症の検査・診断・対策に関する研究

研究協力者 国立感染症研究所・寄生動物部・大前 比呂思

**研究要旨** カンボジア国内での寄生蠕虫感染状況を、メコン住血吸虫症対策が進んでいるクラチエ（Kratie）省と隣接するカンポンチャム（Kampong Cham）省、カンポントム（Kampong Tom）省とで比較した。タイ肝吸虫症の感染率は、メコン住血吸虫に対するプラジカンテル集団治療が毎年行われてきた Kratie 省の村落では 0～1.8% となり、Kampong Cham 省：4.9～65.1%、Kampong Tom：10.6、48.6% と比較して有意に低値を示した。一方、鉤虫の感染率は、Kampong Cham 省の一部の村落で低く、Kampong Tom 省の一部の村落で高くなったほかは、各村落の感染率は 5.7～18.0% で同じような傾向を示した。プラジカンテルによる集団治療は、メコン肝吸虫症対策にも有効であることが示された。しかし、土壌伝播蠕虫対策のため併せて投与されてきたメベンダゾールは、鉤虫感染にはあまり効果がなかった可能性が高い。また、住民の健康意識に関する調査でも、Kratie 省では寄生虫感染に関する知識や行動について、他の地域よりも良い傾向を示し、寄生蠕虫症対策のエントリーポイントとして住血吸虫症対策は有効であると判断された。

#### A. 研究目的

メコン住血吸虫は、ラオス・カンボジア国境付近のメコン河中流域に分布する寄生虫だが、カンボジアでは、対策が進んだ結果、発生数の大幅な減少が得られた。メコン住血吸虫症対策としては、用量 40 mg/kg でのプラジカンテル一斉投与が、感染リスクが増す乾季の初めに行われてきた。プラジカンテルと同時に、土壌伝播蠕虫対策としてメベンダゾール

も、年 1 回ずつ投与されたが、これらの集団治療にあわせて、様々な媒体を用いた健康教育も行われてきた。

タイ肝吸虫は、タイやラオス、カンボジアなどの国々で感染率が高く、慢性の胆道炎症から胆道癌に進展することがある、公衆衛生上重要な寄生蠕虫である。メコン住血吸虫症の有病地では、タイ肝吸虫の感染率も高く、ラオスでは、2 種類の寄生蠕虫が同時に感染することで起

こす重篤な肝胆道系病変も問題となっている。そこで、カンボジア国内のメコン住血吸虫症対策が進んだ地域と隣接する他の地域で、タイ肝吸虫の感染状況や土壌伝播蠕虫の感染状況を比較し、住血吸虫以外の寄生蠕虫の感染率から、住血吸虫症対策の効果を検討することとした。

## B. 研究方法

メコン住血吸虫症対策が行われてきたKratie省では、7村落で2012年4月にKato-katz法による糞便検査を行い、タイ肝吸虫：*Opisthorchis viverrini*を中心に虫卵検出を試みた。また、Kratie省に隣接するKampong Tom省とKampong Cham省では、各々2村落と4村落で、2012年5月に同様な検査を行った。また、あわせて、魚の生食や水への接触行動など、健康意識や行動についても、質問紙法による調査を行った。

## C. 研究結果

Kratie省での調査では、7村落中5村落でタイ肝吸虫卵陽性者を認めず、感染者のいた村落であっても、Samboでは1/165で0.6%、Sre Khoeunでは2/112と非常に低くなった（Table 1）。一方、Kampong Tom省の2村落では、タイ肝吸虫感染率は、11/104（10.6%）と89/183（48.6%）と高くなった。Kampong Cham省の4村落でも、82/126（65.1%）、22/165（21.0%）、5/102（4.9%）、47/165（28.5%）と、バラツキは大きいものの、

総じて高くなる傾向を示した。

土壌伝播蠕虫については、回虫や鞭虫の感染率は、各々の村落で3%以下と低くなった一方、鉤虫の感染率は、5.7～36.5%と、Kampong Cham省の2村落（Kamplak と Banteay）を除き、総じて高くなった（Table 1）。また、淡水魚の生食に関する質問では、Kratie省の村落群では、全く生食しないと返答した住民の比率が29.7～50.5%だったのに対し、Kampong Tom省とKampong Cham省の村落群は、1ヶ月に1回以上生食すると返答した住民の比率が、50%を超えた。

## D. 考察

メコン住血吸虫症対策が進み、プラジカンテルによる集団治療が進んでいる地域では、隣接地域に比してタイ肝吸虫の感染率も低くなった。メコン住血吸虫症対策としての、用量40 mg/kgでのプラジカンテル一斉投与が、タイ肝吸虫の駆虫にも有効であると同時に、集団治療とあわせて行われる健康教育の結果、淡水魚の生食に対する行動変容も促された可能性も指摘される。

カンボジアでは、2002年以降、学童を中心にメベンダゾールの年2回投与による集団治療を中心とした土壌伝播蠕虫症対策が進められている。1990年代は高かった回虫感染率は、2000年代になると速やかに改善するものの、鉤虫や糞線虫の感染率は、比較的高いまま残るという傾

向は、今回対象となった地域以外でも確認されている (Table 2 & 3)。今後は、鉤虫の感染経路・予防に対する健康教育を強化すると同時に、鉤虫に対する駆虫効果が、メベンダゾールよりも高いアルベンダゾールを集団治療での選択薬とすることを検討する必要があると思われる。手法の開発が望まれる。

## E. 結論

カンボジアにおける寄生蠕虫症対策の結果、用量 40 mg/kg でのプラジカンテル集団治療は、メコン住血吸虫症対策のみならず、タイ肝吸虫症対策にも有用である可能性が示された。また、メベンダゾールの一斉投与で、回虫や鞭虫の感染率は低下するが、鉤虫の感染率はあまり低下せず、さらなる健康教育の推進やアルベンダゾールへの薬剤の変更が望まれた。

F. 健康危険情報 特になし

## G. 研究発表

### 1 論文発表

大前比呂思. Today's Therapy 2013, 今日の治療指針 2013 版 (vol.54). 私はこう治療している。医学書院 山口徹、北原光夫、福井次矢編、住血吸虫症 pp:265-266, 2013 (2013 年 1 月発刊)

大前比呂思 輸入寄生虫病  
日本獣医学会雑誌 2012;65 : 101-105

大前比呂思 食品媒介寄生虫症 —  
旅行医学における本症—  
防菌防黴雑誌 2012;40 : 649-656.

### 2. 学会・研究会発表

Screening and monitoring of  
helminthiasis in Japan  
— a comparison of schistosomiasis and  
echinococcosis —

Ohmae H, Morishima Y, Yamasaki H,  
Kironoki M, Chigusa H. 12<sup>th</sup>  
International Workshop of Regional  
Network Asian Schistosomiasis +  
October 2012, Hanoi, Vietnam

A clinical trial for detection of active  
schistosome infection by cell-free  
circulating schistosome DNA in  
chronic patients in the schistosomiasis  
japonica highly endemic area in the  
Philippines

Kato-Hayashi Leonardo LN, Arevalo  
LN, Kirinoki M, Kikuchi M, Ohmae H,  
Haruki K, Chigusa Y 12<sup>th</sup>  
International Workshop of Regional  
Network Asian Schistosomiasis +  
October 2012, Hanoi, Vietnam

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきものはない

Table 1 The prevalence of *Opisthorchis viverrini* infections in targeted province of mass treatment with praziquantel to schistosomiasis, (Kratie province in April, 2012 ) non-targeted province ( Kampong Tom and Kampong Cham provinces in May, 2012)

Province	Commune	Village	Number	<i>O.viverrini</i> (%)	<i>Hook worm</i> (%)
Kratie	Rokakandal	Rokakandal	134	0	11( 8.2)
	Sambok	Sambok	137	0	8( 5.8)
	Sanan	Sre Khoeun	112	2(1.8)	10( 8.9)
		Chartnol	149	0	11( 7.4)
	Sambo	Sambo	165	1(0.6)	17(10.3)
		Kampong Krabei	121	0	16(13.2)
		Achen	121	0	12( 9.9)
Kampong. Thom	Tnaot	Kang Meas	183	89 (48.6)	33 (18.0)
	Tipau	Thlok	104	11 (10.6)	38 (36.5)
Kampong. Cham	Srak	Lpeak	126	82 (65.1)	16 (12.7)
	Preak Krabao	Pousalapi	105	22 (21.0)	6 ( 5.7)
	Baray	Kamplak	102	5 ( 4.9)	0
		Banteay	165	47 (28.5)	3 (1.8)

Table 2 Epidemiological profile of intestinal helminthiases in Cambodia  
 - The results of initial surveys conducted in the 1990's -

Helminth Place, Year	<i>Ascaris</i> <i>limbricoides</i>	<i>Trichuris</i> <i>trichiura.</i>	<i>Hookworm</i>	<i>Echinostoma</i> <i>sp.</i>	<i>Str.ongyloides</i> <i>stercoides</i>	<i>Hymeneo-</i> <i>leptis. nana</i>
Kratie province 1998 1)	49.0	3.2	28.9			1.0
Stung Treng province 1998 1)	8.8	3.8	11.7			
Menh Chey city 1998 1)	47.1	6.4	27.7			3.2
1998 1)	41.7	13.4	3.6			1.1
Phnom Penh city 1996 1)*	62.2	29.7	15.8		3.2	19.8
1998 1)	47.1	6.4	27.7			7.8
Kandal province 1995 2)**	15.4	13.4	21.8	1.1	14.6	2.3
Kampong Chhang province 1998 1)	32.5	6.4	27.7			3.2
Provinces around Tonle Sap Lake 1998, 1999 3)**	29.7	4.4	29.7		20.2	5.0

Examined by Kato-Katz method, Formalin-ether concentration method or modified one\*, Fomalin-ether method and agar plate method\*\*  
 Sinuon M et al, 2003 1), Koga-Kita K, 2004 2), Chhakda T et al, 2006 3),

Table 3 Epidemiological profile of intestinal helminthiasis in Cambodia  
 - The results of initial surveys conducted in the 2000s -

Helminth Place, Year	<i>Ascaris</i> . <i>limbricoides</i>	<i>Trichuris</i> <i>trichiura</i> .	<i>Hookworm</i>	<i>Echinostoma</i> <i>sp.</i>	<i>Str.ongyloides</i> <i>stercoides</i>	<i>Hymeneo-</i> <i>lepis. nana</i>
Kampong Cham city 2002 1)*	26.3	0.4	6.4	15.6	2.4	
Battambang Province 2004 2)*			3.4	4.8	1.3	1.3
Pursat province 2007 3)		0.2	4.9	11.9		

Examined by Kato-Katz method, Formalin-ether concentration method or modified one\*, Fomalin-ether method and agar plate method\*\*

Lee KJ et al, 2002 1), Park SK et al, 2004 2), Sohn MK et al, 2011 3)



## 研究要旨

寄生原虫トリパノソーマを含む分類群であるキネトプラスチダ類に特有のオルガネラ、グリコソームは、特殊化したペルオキシソームであり、解糖系 10 酵素のうちの初段 7 酵素や核酸合成酵素群を含むという特徴を持つ。これらの酵素は生存に必須であることから、トリパノソーマ症の薬剤標的として有望である。本研究では、グリコソームの成立起原およびその生理学的意義の解明に向けて、キネトプラスチダ類の姉妹系統群であるディプロネマ類に着目し、ディプロネマ *Diplonema papillatum* のドラフトゲノム解読を行ない、糖代謝酵素群の遺伝子の同定を試みた。ディプロネマの推定ゲノムサイズは 176 Mb で、トリパノソーマ類のゲノム (26~36 Mb) と比較して大きく、遺伝子内にイントロンが存在することが明らかとなった。糖代謝関連酵素群およびグリコソームまたはペルオキシソーム局在性酵素をコードする遺伝子を同定し、酵素の一次構造の特徴を解析した。これらの結果と生化学的解析結果を合わせ、ディプロネマ類とキネトプラスチダ類の共通祖先で起きた代謝経路の再編成について考察する。

### A. 研究目的

新興・再興感染症のなかでもトリパノソーマ症や日本住血吸虫症などの人獣共通寄生虫症では、保虫宿主の存在が流行地での対策を困難なものにしている。本研究では、これら寄生原虫・蠕虫の持つ特異な生物学的特徴を同定・解析し、そこから得られた成果を応用して新規治療薬開発およびワクチン開発を行なうことを最終目的とする。

我々は、寄生原虫トリパノソーマを対象として代謝経路とオルガネラの共進化、特に代謝経路酵素の局在が変わることの生理的意義、およびオルガネラの機能転換が起こる際の進化の原動力、特に遺伝子水平転移の果たす役割の解明を目指して研究を進めている。寄生原虫トリパノソーマを含むキネトプラスチダ類にのみ存在するオルガネラ、グリコソームは、10 酵素からなる解糖系の初段 7 酵素や核酸合成酵素群を含み、これらのグリコソーム局在性酵素はヒトのオルソログとは異なる局在性や生化学的性状を持つことから、トリパノソーマ症治療薬の標的として有望視されて

いる。グリコソームはペルオキシソームと共通する移行シグナル (PTS) を持つなど、両者の生化学的類縁性が示唆されている。

これまでの研究から、我々はキネトプラスチダ類とともにユーグレノゾア生物群に分類され、キネトプラスチダ類と共通祖先を持つディプロネマ *Diplonema papillatum* (ATCC 50162) において、解糖系第 4 酵素 fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBPA) がペルオキシソーム様オルガネラに局在することを明らかにした (Makiuchi, *et al.*, *Protist* 126: 482, 2011)。一方、トリパノソーマの解糖系 10 酵素のうち最初の 7 酵素がグリコソーム局在性であるのに対し、ディプロネマでは FBPA のみが小胞局在であり、グリコソーム成立の前段階として解糖カスケードの遮断が起きた可能性が示唆される (未発表)。そこで本年度は、トリパノソーマ類とディプロネマとの比較ゲノミクス的アプローチから、酵素群の局在変更の生理的意義の解明を試みた。

## B. 研究方法

ディプロネマ *Diplonema papillatum* (ATCC 50162) より核ゲノム DNA を精製した。培養した *D. papillatum* を破砕後、遠心分離法を用いて核画分を調製後、DNA を抽出した。得られた DNA は、核 DNA に加えミトコンドリア DNA 考えられる短鎖長の DNA を大量に含んでいたため、改めてアガロースゲル電気泳動を行ない、核 DNA に相当するゲル片を回収後、DNA を生成した。得られた *D. papillatum* 核 DNA を用いたゲノム配列の決定は、タカラバイオ (株) に委託した。塩基配列の決定は HiSeq システム(イルミナ社) を用いた。

## C. 結果

ディプロネマの推定ゲノムサイズは 176 Mb であった。残念ながら、塩基配列決定に用いた HiSeq はペアエンドリード長が短く (100 bp)、得られた平均コンティグ長は 4.8 Kb、最大コンティグ長は 62 Kb であった。ディプロネマのゲノムサイズはトリパノソーマ類のゲノム (26~36 Mb) と比較して大きく、遺伝子内にイントロンが存在することが明らかとなった。遺伝子のアノテーションについては、参照ゲノムとしてトリパノソーマ類 3 種 (*Trypanosoma cruzi*, *T. brucei*, *Leishmania major*) のゲノム配列を用いた。残念ながら、特に多数のイントロンを含む遺伝子ではアノテーションが不十分であったため、目的遺伝子の同定に際してはマニュアルで BLAST 検索を行なった。最終的に、糖代謝関連酵素群およびグリコソームまたはペルオキシソーム局在性酵素の遺伝子を同定し、酵素の一次構造の特徴を解析した。

解糖系酵素については、第 6 酵素 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を除く初段 6 酵素および glucokinase が、トリパノソーマ酵素同様に PTS を持つことが明らかとなった。他の糖代謝関連酵素については、糖新生経路の重要な酵素である fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase) にも PTS が存在していた。

ペルオキシソームには局在せず、グリコソームにのみ局在する酵素群として、核酸合成関連酵素が挙げられる。興味深いことに、トリパノソーマでは PTS が付加されている酵

素 (adenine phosphoribosyltransferase (APRT)、hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT)、inosine-5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH)、adenylate kinase (ADK)、orotate phosphoribosyltransferase (OPRT)、deoxyribose-phosphate aldolase (DERA)) は、ディプロネマでは HGPRT を除き PTS が検出されなかった。

次に、キネトプラスチダ類とディプロネマ類とともに PTS を持つ酵素が共通起原を持つかどうかを明らかにするため、分子系統樹を作成した。解糖系第 3 酵素 phosphofructokinase (PFK)、GAPDH および FBPase の分子系統解析の結果、キネトプラスチダ類とディプロネマ類は単系統を示さず、どちらかのグループで特異的に遺伝子水平転移が起きたことが明らかとなった。

## D. 考察

本研究において、ディプロネマの糖代謝関連遺伝子群の同定に成功した。そのうち解糖系第 1 酵素 hexokinase (HK)、第 2 酵素 glucose phosphate isomerase (GPI)、第 3 酵素 PFK、第 4 酵素 FBPA、第 5 酵素 triose-phosphate isomerase (TIM)、および第 7 酵素 phosphoglycerate kinase (PGK) は、トリパノソーマ酵素と同様に PTS を持つことが明らかとなった。PTS にはタンパクの N 端部の PTS2 および C 末端の PTS1 の 2 タイプが存在し、キネトプラスチダ類とディプロネマの両者に共通して HK、FBPA に PTS2 が、GPI、PFK、TIM、PGK に PTS1 が、それぞれ存在する。これらの結果は、キネトプラスチダ類とディプロネマ類の共通祖先において、解糖系酵素群のペルオキシソーム移行が起きたことを強く示唆している。興味深いことに、PFK (PTS1 タイプ) および GAPDH (PTS 無し) は、キネトプラスチダ類とディプロネマ類の間で異なる起原を持つことが示唆される。また、糖新生関連酵素のうち FBPase はキネトプラスチダ類とディプロネマのどちらも PTS1 を持つ一方、酵素遺伝子の起原は異なることが強く示唆された。これらは、両群の間で異なる代謝プロファイルを発達させる過程で獲得されたものと考えられる。

キネトプラスチダ類では解糖系初段 7 酵素に加えて、他の代謝経路酵素がペルオキシソームに特異的に局在することが知られている。核酸合成関連酵素について、ディプロネマでは

HGPRT においてのみ PTS1 が検出された。以上の結果を合わせて考えると、ユーグレノゾア生物群の進化過程で、キネトプラスチダ類とディプロネマ類の共通祖先において最初に解糖系酵素のペルオキシソーム移行が起こり、他の代謝関連酵素はそれに引き続いて移行したと考えられる。特に核酸合成関連酵素についてはキネトプラスチダ類の分岐後に特異的に局在変更が起きたことが示唆される。

## E. 結論

本研究から、キネトプラスチダ類とディプロネマ類の共通祖先において、解糖系酵素のペルオキシソーム移行が起きたことが強く示唆された。一方で、本研究で明らかとなった解糖系酵素の一次構造は、生化学的解析結果を支持しない。タンパクのペルオキシソーム移行には peroxins と呼ばれる一群のタンパクが必須であり PTSs の認識、ペルオキシソーム上での足場の形成、タンパクの挿入という一連の反応に深く関与しているが、ディプロネマでは PTSs の認識機構がキネトプラスチダ類とは異なる可能性が考えられる。実際に、一部の peroxin オルソログはディプロネマゲノム上に検出できない。現在、糖代謝関連酵素群の機能発現の「場」を詳細に解析するため、現在解糖系酵素特異的抗体を作製し、免疫蛍光法等を用いた局在解析を進めている。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表 和文論文

#### 英文論文

1. Hashimoto M, Morales J, Fukai Y, Suzuki S, Takamiya S, Tsubouchi A, Inoue S, Inoue M, Kita K, Harada S, Tanaka A, Aoki T, Nara T. Critical importance of the de novo pyrimidine biosynthesis pathway for *Trypanosoma cruzi* growth in the mammalian host cell cytoplasm. *Biochem Biophys Res Commun* 417(3): 1002-1006. 2012
2. Nara T, Hashimoto M, Hirawake H, Liao CW, Fukai Y, Suzuki S, Tsubouchi A, Morales J, Takamiya S, Fujimura T, Taka H, Mineki R, Fan CK, Inaoka DK, Inoue M, Tanaka A, Harada S, Kita K,

Aoki T. Molecular interaction of the first 3 enzymes of the de novo pyrimidine biosynthetic pathway of *Trypanosoma cruzi*. *Biochem Biophys Res Commun* 418(1): 140-143. 2012

3. Fan CK, Liao CW, Lyu SY, Sukati H, Ji DD, Cho CM, Jien JY, Huang YC, Chang PWS, Chiu WT, Nara T, Tsubouchi A, Huang YH, Tu CC, Lan SJJ, Chao JCJ. Prevalence of intestinal parasitic infections among primary school children in areas devoid of sanitation in northwestern Kingdom of Swaziland, Southern Africa. *Pathog Glob Health* 106(1): 60-62. 2012
4. Annoura T, Makiuchi T, Sariego I, Aoki T, Nara T. SUMOylation of paraflagellar rod protein, PFR1, and its stage-specific localization in *Trypanosoma cruzi*. *PLoS ONE* 7(5): art. no. e37183. 2012
5. Fan CK, Lee LW, Liao CW, Huang YC, Lee YL, Chang YT, Da Costa NDSRJ, Gil V, Chi LH, Nara T, Tsubouchi A, Akinwale OP. *Toxoplasma gondii* infection: Relationship between seroprevalence and risk factors among primary schoolchildren in the capital areas of Democratic Republic of São Tomé and Príncipe, West Africa. *Parasit Vectors* 5(1): art. no. 141. 2012
6. Minakata K, Takahashi F, Nara T, Hashimoto M, Tajima K, Murakami A, Nurwidya F, Yae S, Koizumi F, Moriyama H, Seyama K, Nishio K, Takahashi K. Hypoxia induces gefitinib resistance in non-small-cell lung cancer with both mutant and wild-type epidermal growth factor receptors. *Cancer Sci* 103(11): 1946-1954. 2012
7. Hashimoto M, Enomoto M, Morales J, Kurebayashi N, Sakurai Y, Hashimoto T, Nara T, Mikoshiba K. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor regulates replication, differentiation, infectivity, and virulence of the parasitic protist

*Trypanosoma cruzi*. Mol Microbiol, in press.

## 2. 学会発表

1. 奈良武司、ホルヘモラレス、茂木浩子、山下由莉、坪内暁子、橋本宗明. トリパノソーマの特異オルガネラ、グリコソームの起原を探る：*Diplonema papillatum* の解糖系酵素の一次構造と特徴. 第 72 回日本寄生虫学会東日本支部会・第 10 回分子寄生虫マラリアフォーラム合同大会、前橋市、平成 24 年 10 月 12-13 日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

厚生労働科学研究補助金（社会保障国際協力推進研究事業  
「寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめぐった研究」）

研究協力者 報告書

人獣共通幼条虫症（脳囊虫症、エキノコックス症）の病態、診断、治療、予防に向けた  
研究

研究協力者 旭川医科大学寄生虫学講座 伊藤 亮

### 研究要旨

人獣共通寄生虫疾患である脳囊虫症とエキノコックス症は、地球規模で環境汚染と流行拡大が年々深刻化しており、WHO によって狂犬病その他とともに *Neglected Zoonotic Diseases* にリストアップされている。本研究では、これらの寄生虫疾患についての免疫、遺伝子診断法の開発、改善と、病原体である寄生虫の遺伝子多型解析ならびに解析結果に基づく感染地域の特定、リアルタイムで正確な検査結果を出せる迅速免疫診断キット開発研究を前年度からの継続研究として実施し、人体エキノコックス症(多包虫症、単包虫症)、囊虫症に関する迅速免疫診断キットが完成し、市販されるにいたった。

#### A. 研究目的

人獣共通幼条虫症として地球規模で深刻な問題を提示している疾患は、脳囊虫症とエキノコックス症（単包虫症ならびに多包虫症）である。人体寄生テニア属条虫として3種(*Taenia solium*、*Taenia saginata*、*Taenia asiatica*)が知られているが、これらの中で人体脳囊虫症を引き起こすのは *T. solium* 1種である。本研究では1. テニア症・囊虫症研究、2. エキノコックス症研究、3. 疫学研究その他、4. 研究者ネットワーク強化の観点から下記の研究を展開することを目的とした。

1) テニア条虫3種が同所的に分布している地域（タイ、中国）の発見と、3種類遺伝子鑑別法の開発および改善、2) *T. solium* と他の2種テニア条虫との分子系

統学的評価、3) 囊虫症流行地での患者、患畜検出方法の開発と改善と新しい抗原精製法の開発、4) 遺伝子解析により患者の感染地域を特定する試みについて研究を展開する。また5) エキノコックス症に関しても同様な遺伝子解析による分類の再検討、種内変異解析、種の起源と地理拡散、血清診断法の改良と評価を試みる。さらに6) 予防の観点から、アジアにおける専門家間でのネットワーク強化を試みる。

#### B. 研究材料、方法

材料：テニア属条虫症：テニア条虫感染者から駆虫された虫体、糞便、血清ならびに野生動物寄生テニア属条虫虫体  
囊虫症：患者ならびに患畜から摘出された病巣（囊虫）、血清（患者、患畜）、髄液（患

者)

エキノコックス症：世界各国（ロシア、中国、モンゴル、エチオピア、ヨルダン、イラン）において画像診断ならびに外科手術により確定診断がついた単包虫症、多包虫症患者から得られた血清、パラフィン包埋病理標本ならびに野生動物から得られたエタノール固定原頭節、虫卵と成虫

方法：旭川医科大学寄生虫学講座で開発された遺伝子検査 (Multiplex PCR、LAMP、簡便 LAMP)、血清検査法（各種遺伝子組み換え抗原を用いてイムノブロット、ELISA、迅速イムノクロマトキット）。

## C. 結果

### 1. テニア症・囊虫症研究

1) 流行の現場で特別な装置なしに実施可能な LAMP 法を開発し、現場でその有効性を確認した(業績 11)。

2) 遺伝子解析に基づくテニア条虫(*Taenia saginata*、*Taenia asiatica*)の交雑個体の確認：これまでに既に確認されているタイ以外に、中国からも交雑個体が確認された(業績 16; Nkouawa et al. in prep)。

3) 囊虫症の流行地域住民検診に血清検査法を導入し、インドネシアで眼囊虫症症例を確認した(業績 17)。

4) マダガスカルに分布している有鉤条虫のミトコンドリア並びに核遺伝子を解析した結果、アジア型が太平洋側に、アフリカ型がアフリカ川に分布していること、さらにアジア型とアフリカ型の交雑個体も発見された(Yanagida et al. in prep.)

5) 中国ならびにタイでそれぞれ 20 隻(Ito et al. submitted)、19 隻の有鉤条虫多数寄生例が見つかった(Kusolsuk et al. in

prep.)。

6) テニア症患者からの駆虫薬として漢方（カボチャの種とビンロウジュの抽出液）の再評価が試みられた（業績 8）。

9) インドネシア、中国の流行地で、肥育されているブタの個体識別調査、抗体検査を実施し、抗体検査に基づき、患畜個体を確認できた(Dharmawan et al. in prep.; Li et al. in prep.)。

10) 囊虫症診断抗原の新しい簡便な精製法(Sako et al. in prep.)と血清と髄液とでの抗体応答に関する比較解析結果が得られた(Sako et al. in prep.)。

11) ヒトならびにブタに利用できる囊虫症に関する迅速イムノクロマトグラフィキットの基本形を開発し (Sako et al. unpublished)、ヒトに対する迅速キットを完成させ、市販にこぎつけた (E. 資料)。

### 2. エキノコックス症研究

遺伝子解析：

1) 分子系統学的研究：中近東（ヨルダン、イラン）、中国、ペルーから得られた単包条虫 (G1) サンプルのミトコンドリア遺伝子多形解析を実施し、中近東由来の寄生虫の遺伝子多型が非常に大きいことが判明し、G1 の起源を中近東と推定した（業績 10）。

2) エチオピアのラクダから採取された単包虫のミトコンドリア遺伝子解析から、G6 が確認された（業績 13）。

3) ロシアの飼い猫から単包虫症(G1)が確認された（業績 19）。

4) ロシア、アルタイ地方で確認された多包虫症、単包虫症患者の肝病巣を用いる遺伝子解析を実施した（業績 12）。

血清診断学的研究：

1) 血清診断法の開発、診断学的研究：①スイスで市販されている Em2plus-ELISA と迅速イムノクロマトキットを用い、感度、特異性に関する比較解析研究からイムノクロマトキットの信頼性が非常に高いことが判明した(Knapp et al. in prep.)。②遺伝子組み換え Antigen B8/1 を用いたイラン人を対象とした単包虫症血清診断成績を報告した(業績 15)。③多包虫症、単包虫症、囊虫症の3疾患に関する迅速キットが2012年12月に市販された(製造:(株)アドテック、大分、宇佐市、販売:(株)ICST、埼玉、さいたま市)(資料 1)。

### 3. 疫学研究その他

1) 2011年1月と9月に実施したインドネシア、バリ島の僻村で、眼囊虫症患者(業績 17)、有鉤条虫感染者を確認し、同地域でのリアルタイムブタ検査法の導入に踏み切った。その結果、有鉤条虫症患者の隣の家で肥育されていたブタが濃厚感染していることが検査から強く疑われ、剖検によりそれが確認された(Dharmawan et al. in prep.)。

2) インドで有鉤条虫に感染し、年余にわたる虫卵排出と、自家感染による囊虫症を引き起こした日本人症例に遭遇し、患者の家族ならびに会社の同僚について囊虫症の2次感染の有無を血清検査、テニア症について LAMP 検査その他を実施し(Kobayashi et al. submitted)、国内での2次感染予防、阻止に向けた基礎資料として、日本における囊虫症症例報告を解析し、現在の日本の状況と問題点を考察する総説をまとめた(業績 14)。

### 4. 研究者ネットワーク強化

1) アジア、世界におけるネットワーク強化

のため、マレーシア熱帯医学・寄生虫学会年次総会(クアラルンプール)、第5回 ASEAN 熱帯医学会議(マニラ)、第3回アジア免疫・微生物学会議(ウランバートル)、アジア科学者会議(ボゴール)、第18回国際熱帯医学・マラリア会議(リオデジャネイロ)に参加した。

2) 国際シンポジウムを中国、タイで主催した。①人獣共通条虫症対策国際会議(旭川医科大学、中国 CDC 寄生虫病研究所共催)、10月29、30日、上海、②アジアにおける人獣共通条虫症シンポジウム：日本からの過去、現在、未来における国際貢献(旭川医科大学主催)。第7回食品媒介人獣共通寄生虫病国際セミナー、12月12-14日、バンコック。①の報告書は英国の国際専門誌、Parasitology の special issue として2013年度内に出版を予定している。

### D. 考察・結論

患者、患畜確認に必要な血清抗体検査法、遺伝子検査法の改善、開発に取り組み、感染者と感染動物の検出精度が大きく向上し、流行の現場においてリアルタイムで役立つ検査法を確立し、市販にこぎつけた(業績 6,7)。グローバル化の波により、途上国から先進国への病原体の持ち込みが日常的に起こり得る時代である。囊虫症対策には流行地でのリアルタイムの検査、確認、住民ならびに保健所関係者への啓発が不可欠である(業績 14)。

北海道の地方病であるエキノコックス症について我々が確立した検査法(RecEm18-ELISA、-Immunoblot)は、欧米の専門機関との共同研究から世界最高水準との国際評価を得ている。さらに、ア

ドテック(株)と共同で開発した簡便な迅速イムノクロマト診断キットの外部評価が得られ (Knapp et al. in prep.)、国内外で市販される運びになった。このキットは特別な経験や施設を必要とせず、受診時間内にリアルタイムで結果を出せる。国内症例で、陽性であればほぼ 100%多包虫症と診断できる精度である。30 年前に 1 度だけ 1 週間のバスツアーで北海道を訪問し、1 昨年、確定診断がつかずに外科治療を受け、多包虫症と確定された症例がある (Amano et al. in prep.)。

多包虫症は国内では北海道の地方病として知られているが、北海道全域で環境汚染が進んでしまった現状から鑑みて、道民の感染者増加のみならず、道外から北海道を訪問するすべてのヒト (観光客、ビジネスマン、他) が北海道内で感染する機会は日本人、外国人を問わず、今後急増することが懸念される。それゆえ、北海道外の全国病院で診断が確定しない占拠性肝疾患では、北海道旅行歴の有無を確かめ、多包虫症の確定あるいは除外の目的で、全国病院のベッドサイドでの迅速キットの利用が推奨される。また北海道内での住民健診に積極的に応用すべきであろう。

格段に信頼性が向上した技術が開発され、特殊な専門家、施設を必要としない時代であり、合理化、効率化が求められる現在、技術の進展を客観的に評価すべき時代であろう (業績 3)。市販キットの評価が求められる。

さらに、2010~2011 年にロシア、モスクワ市内の動物園で、外部環境とは完全に隔離されている飼育室内で生まれ育った小型のサル仲間 (Galago) が多数感染、死亡

しており、餌となる植物に虫卵が混入していたと推測されている。多包虫症は北海道の地方病であるが、北海道から持ち出されたイヌから成虫が検出された例 (関東)、北海道から移送され、肥育されていた競走馬が多包虫に感染していた例 (山形県)、必ずしも北海道との関連が確認されていないが、肥育されていた豚が多包虫に感染していた例 (青森県) などの報告がある。これまではイヌを含め、北海道で感染した動物個体が本州などに移送され後に感染が確認されたと推測されているが、2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災直後の原発爆発による環境汚染、汚染地域にいたイヌを含む動物の野生化、北海道から移送された家畜用牧草への虫卵の混入、野ネズミの混入の可能性など、北海道以外でも環境汚染が期せずして起こり得るかもしれない。北海道での流行拡大実態から類推して、定着してしまえば本州全域への汚染拡大は容易に予測できる。その意味で、北海道での蔓延の原因解析、東北地方における野生動物、家畜、住民における多包虫症の動向には注意が必要であろう (伊藤亮他、日本臨床 2013 年 7 月別冊より抜粋)。

#### **E. 迅速キット資料 : (株) ICST Co. Ltd.**

アドテック社製 ADAMU 発売に関するお知らせ

- 1) エキノコックス症 (単包虫症) キット
- 2) エキノコックス症 (多包虫症) キット
- 3) システィセルコーシス (囊虫症) キット

当社は、アドテック社と旭川医科大学との協力により、全世界のエキノコックス症 (多包虫症、単包虫症) 並びにシスティセルコー



シス（囊虫症）診断を正確な確定診断を行うキット(研究試薬)の販売代理店を締結し、発売を開始しましたのでお知らせいたします。

診断抗原として最も信頼性が高いと国際的に評価されている遺伝子組み換え Em18 (多包虫症)と Antigen B8/1(単包虫症)を用いるエキノコックス症の迅速キット開発は、文部科学省「橋渡し研究支援推進プログラム」事業(2007～ 2011 年度)における支援研究として北海道臨床開発機構(札幌医科大学、北海道医科大学、旭川医科大学で構成)の支援を得て協同開発されました。システィセルコーシス(囊虫症)キットは文部科学省科学技術戦略推進費(2010～2012 年度)により、旭川医科大学で開発されました。

エキノコックス症・システィセルコーシス是人獣共通寄生虫疾患、食品媒介寄生虫疾患、土壌伝搬性寄生虫疾患であり、地球規模で環境汚染、流行域が拡大し、患者数が増えている難治生の寄生虫疾患です。詳しくは、カタログをご覧ください(埼玉県さいたま市、tel: 048-857-8026, fax:048-857-8041)。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 和文総説・論文

1. 迫 康仁、伊藤 亮 (2012). 糞便中の寄生虫の核酸検査法について教えてください. 臨床検査増刊号「Q & A: 臨床検査のすべて」56, 1254-1255.
2. 柳町徳春、伊藤 亮 (2012). 脳囊虫症. KEY よくわかる脳 MRI 第3版. 674-677. 秀潤社
3. 伊藤 亮、石川裕司. エキノコックス症の早期診断法. 日本医事新報 2012.8.18. No. 4608. 60-61.

4. 伊藤 亮 (2012). 各論 12 章. 感染症・寄生虫疾患. 3. 条虫類. カラー版内科学, 1903-1907. 西村書店.
5. 伊藤 亮 (2012). 感染症辞典(平山謙二編集). オーム社. エキノコックス症:516-518, 囊虫症:549-552, (2012 年 1 月発刊)すでに印刷、公表された上記総説・論文以外に現在、印刷されている下記の 4 総説がある。
  - 伊藤 亮、迫 康仁、石川裕司(2013).エキノコックス症. 日本臨床2013年7月別冊.
  - 伊藤 亮、迫 康仁、柳田哲矢(2013).有鉤条虫症、有鉤囊虫症. 日本臨床2013年7月別冊.
  - 伊藤 亮、迫 康仁(2013). 4.免疫学的検査/C. 感染症—抗原・抗体・遺伝子検査/④寄生虫. 抗エキノコックス抗体. 臨床検査ガイド2013～2014. 文光堂.
  - 伊藤 亮 (2013). [感染症、寄生虫疾患] 条虫症(腸管条虫症、腸管外条虫症). 今日の治療と看護 改訂第3版. 南江堂.

## 英文総説

6. Ito A, Nakao M, Sako Y, Yanagida T, Nakaya K, Knapp J, Ishikawa Y. Chapter Echinococcus and Echinococcosis. In: Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens (ed. by Liu D), 247-261. 2012. CRC Press. (ISBN 9781439812426)
7. Okamoto M, Ito A. Chapter Taenia. In: Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens (ed. by Liu D), 295-305. 2012. CRC Press. (ISBN 9781439812426)

## 英文論文

8. Li T, Ito A, Chen X, Long C, Okamoto M, Raoul F, Giraudoux P, Yanagida T, Nakao M, Xiao N, Craig PS. Usefulness of pumpkin seeds combined with areca nut extract in community-based treatment of human taeniasis in northwest Sichuan province. Acta Trop. 124, 152-157. 2012.
9. Boufana B, Stidworthy MF, Bell S, Chantrey J, Masters N, Unwin S, Wood R, Lawrence RP, Potter A, McGarry J, Jull P, Browne E, Schoniger M, Redrobe S, Killick R, Foster AP, Mitchell S, Sako Y, Nakao M, Ito A, Wyatt K, Lord B, Craig PS. *Echinococcus*

- and *Taenia* spp. from captive mammals in the United Kingdom. *Vet Parasitol.* 190:95-103. 2012.
10. Yanagida T, Mohammadzadeh T, Kamhawi S, Nakao M, Sadjjadi SM, Hijjawi N, Abdel-Hafez SK, Sako Y, Okamoto M, Ito A. Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus* in the Middle East. *Parasitol Int.* 61, 599-603. 2012.
  11. Nkouawa A, Sako Y, Li T, Chen X, Nakao M, Yanagida T, Okamoto M, Giraudoux P, Raoul F, Nakaya K, Xiao N, Qiu J, Qiu D, Craig PS, Ito A. A loop-mediated isothermal amplification method for a differential identification of *Taenia* tapeworms from human: application to a field survey. *Parasitol Int.* 61, 723-725. 2012.
  12. Konyaev SV, Yanagida T, Ingovatova GM, Shoikhet YN, Nakao M, Sako Y, Bondarev AY, Ito A. Molecular identification of human echinococcosis in Altai region, Russia. *Parasitol Int.* 61, 711-714. 2012.
  13. Hailemariam Z, Nakao M, Menkir S, Lavikainen A, Yanagida T, Okamoto M, Ito A. Molecular identification of unilocular hydatid cysts from domestic ungulates in Ethiopia: implications for human infections. *Parasitol Int.* 61, 375-377, 2012.
  14. Yanagida T, Sako Y, Nakao M, Nakaya K, Ito A. Mini Review: Taeniasis and cysticercosis due to *Taenia solium* in Japan. *Parasit Vectors*, 5, 18, 2012.
  15. Mohammadzadeh T, Sako Y, Sajjadi SM, Sarkari B, Ito A. Comparison of the usefulness of hydatid cyst fluid, native antigen B and recombinant antigen B8/1 for serological diagnosis of cystic Echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 106, 371-375, 2012.
  16. Yamane K, Suzuki Y, Tachi E, Li TY, Chen XW, Nakao M, Nkouawa A, Yanagida T, Sako Y, Ito A, Sato H, Okamoto M. Recent hybridization between *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. *Parasitol Int.* 61, 351-355, 2012.
  17. Swastika K, Dewiyani CI, Yanagida T, Sako Y, Sudamaja M, Sutisna P, Wandra T, Dharmawan NS, Nakaya K, Okamoto K, Ito A. An ocular cysticercosis in Bali, Indonesia caused by *Taenia solium* Asian genotype. *Parasitol Int* 61, 378-380. 2012.
  18. Ma J, Wang H, Lin G, Craig PS, Ito A, Cai Z, Zhang T, Han X, Ma X, Zhang J, Liu Y, Zhao Y, Wang Y. Molecular identification of *Echinococcus* species from eastern and southern Qinghai, China, based on the mitochondrial *cox1* gene. *Parasitol Res.* 111, 179-184. 2012.
  19. Konyaev SV, Yanagida T, Ivanov MV, Sako Y, Nakao M, Ito A. The first report on cystic echinococcosis in a cat caused by *Echinococcus granulosus* sensu stricto (G1). *J Helminthol.* 20, 1-4, 2012.
2. 学会発表
    1. Akira Ito. Overview in the borderless world of cestode zoonoses in Asia: Japanese contribution towards future and further collaboration. JITMM2012 & FBPZ7, Bangkok, 12-14 Dec, 2012.
    2. Yasuhito Sako, Akira Ito. Advances in technology for EBM. JITMM2012 & FBPZ7, Bangkok, 12-14 Dec, 2012.
    3. Tetsuya Yanagida, Yasuhito Sako, Minoru Nakao, Kazuhiro Nakaya, Akira Ito. Molecular phylogeography of zoonotic taeniid tapeworms. JITMM2012 & FBPZ7, Bangkok, 12-14 Dec, 2012.
    4. Paron Dekumyoy, Teera Kusolsuk, Wallop Pakdee, Surapol Sanguankiat, Kittipong Chaisiri, Nirundorn Homsuwan, Tetsuya Yanagida, Yasuhito Sako, Minoru Nakao, Munehiro Okamoto, Akira Ito. Joint projects on taeniasis and cysticercosis in Thailand. JITMM 2012 & FBPZ7, Bangkok, 12-14 Dec, 2012.
    5. Akira Ito. International collaboration and cooperation towards control of cestode zoonoses in Asia. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
    6. Sergey Konyaev, Tetsuya Yanagida, Minoru Nakao, Yasuhito Sako, Valeriy Odnokurtcev, Galina Ingovatova, Oleg Andreyanov, Akira Ito. Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
    7. Minoru Nakao, Tetsuya Yanagida, Sergey Konyaev, Antti Lavikainen, Akira Ito. Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.

8. Patrick Giraudoux, Francis Raoul, Eve Afonso, Iskender Ziadinov, Yurong Yang, Li Li, Tiaoying Li, Jean-Pierre Quere, Nicolas Tete, Xiaohui Feng, Qian Wang, Hao Wen, Akira Ito, Philip S Craig. Spatial approach of *Echinococcus multilocularis* transmission ecology in continental Asia. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
9. Francis Raoule, Patrick Giraudoux, Tiaoying Li, Tetsuya Yanagida, Changping Long, Xingwang Chen, Munehiro Okamoto, Minoru Nakao, Yasuhito Sako, Akira Ito. Taeniasis/ cysticercosis in farmer communities of Western Sichuan, China: a spatial study. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
10. Yasuhito Sako, Akira Ito. Recent advances in immunodiagnosis of cysticercosis. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
11. Tiaoying Li, Akira Ito, Xingwang Chen, Dongchuang Qiu. Current status of taeniasis/cysticercosis in Tibetan populations of Sichuan province, China. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
12. Kadek Swastika, Toni Wandra, Made Sudrmaja, Nyoman S Dharmawan, DAA Sri Laksemi, Luh Putu Eka Diarthini, Tetsuya Yanagida, Yasuhito Sako, Munehiro Okamoto, Akira Ito. Taeniasis/cysticercosis in Karangasem, Bali, Indonesia. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
13. Nyoman S. Dharmawan, Kadek Swastika, I Ketut Suardita, I Negah Kepeng, Yasuhito Sako, Munehiro Okamoto, Tetsuya Yanagida, Toni Wandra, Akira Ito. Pig cysticercosis in Karangasem, Bali, Indonesia. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
14. Paron Dekumyoy, Teera Kusolsuk, Surapol Sa-Nguankiat, Kittpong Chaisiri, Nirundorn Homsuwan, Tetsuya Yanagida, Yasuhito Sako, Minoru Nakao, Munehiro Okamoto, Akira Ito. Taeniasis and cysticercosis on the Thai-Myanmar border: an update. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
15. Anu Davaasuren, Temuulen Dorjsuren, Tetsuya Yanagida, Abmed Davaajav, Yasuhito Sako, Nyamkhuu Dulmaa, Akira Ito. Taeniasis in Mongolia, 2002-2011. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
16. Akira Ito, Yasuhito Sako, Sonoyo Itoh, Yuji Ishikawa, Hiromitsu Akabane. Recent advances in serodiagnosis of both alveolar and cystic Echinococcosis and monitoring of progression of AE. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
17. Tiaoying Li, Akira Ito, Xingwang Chen, Changping Long, Munehiro Okamoto, Francis Raoul, Patrick Giraudoux, Tetsuya Yanagida, Minoru Nakao, Yasuhito Sako, Ning Xiao, Philip S Craig. Usefulness of pumpkin seed combined with areca nut extract in community-based treatment of human taeniasis in northwest Sichuan Province, China. International Symposium on Cestode Zoonoses Control, Shanghai, 29,30 Oct, 2012.
18. Akira Ito and working group members working in Asia. What can we provide through molecular and immunological approaches? Round Table: Taeniasis and Cysticercosis Complex. The 18<sup>th</sup> International Congress of Tropical Medicine and Malaria. 23-27 Sep 2012. Rio de Janeiro, Brazil.
19. Akira Ito, Toni Wandra, Munehiro Okamoto, Nyoman S Dharmawan, Yasuhito Sako, Kadek Swastika, Tetsuya Yanagida, Kazuhiro Nakaya, Hemma Yulfi, Dewi Masyithah Darlan, Putu Sutisna. Intervention of food-borne parasitic zoonoses, taeniasis due to 3 species of human *Taenia* and cysticercosis due to *Taenia solium* in people and pigs, Indonesia. Conference of the 12<sup>th</sup> Science Council of Asia International Symposium, 11,12 July, 2012. Bogor, Indonesia.

20. Akira Ito, Yasuhito Sako, Sonoyo Itoh, Hiromitsu Akabane, Yuji Ishikawa. Alveolar Echinococcosis: The rapid and remarkable decrease in antibody titers after curative resection of hepatic lesions. at 3<sup>rd</sup> International Conference “Current Advances in Immunology and Microbiology”, 21-22 June 2012, Ulaanbaatar, Mongolia.
21. Akira Ito, Munehiro Okamoto, Yasuhito Sako, Toni Wandra, Tiaoying Li, Paron Dekumyoy, Tetsuya Yanagida, Minoru Nakao, Kazuhiro Nakaya, Nyoman S Dharmawan, Kadek Swastika, Teera Kusolsk, Wallop Pakdee, Agathe Nkouawa. After 30 years: towards control of cysticercosis in Southeast Asia through multilateral collaboration and cooperation. 5<sup>th</sup> Asean Congress of Tropical Medicine and Parasitology, 15-17 May 2012, Manila, Philippines.
22. Akira Ito and the working group members from Japan, Indonesia, Thailand, China, France and UK. Towards Control of Cysticercosis due to *Taenia solium* in Southeast Asia: International Joint Project for the Establishment of Molecular and Immunological Tools Applicable in the Field. The 48<sup>th</sup> Annual Scientific Conference of the Malaysian Society of Parasitology and Tropical Medicine 2012. 27-28 March 2012. Kuala Lumpur, Malaysia.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし