

6. 寄生動物部

部長 野崎 智義

概要

当部は、原虫及び蠕虫による感染症全般に係る基礎ならびに応用研究を行っている。疾患対象としては、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、ミクロスポリジアなどの腸管寄生性の原虫、アcantアメーバ等自由生活性アメーバ等原虫、トキソプラズマ、マラリア原虫などのアピコンプレックス類原虫を含む単細胞真核生物である原生生物(原虫)による感染症と、アニサキス、トキソカラ、肺吸虫、条虫など多細胞真核生物である蠕虫による感染症が挙げられる。これら寄生虫感染症の検査・診断法の開発・評価、治療法の創成に繋がる基盤的な研究や国内外の現況把握のために、疫学・分子疫学調査を継続的に行った。また、これらの寄生虫症に関する依頼検査、レファレンス業務、研修、国際協力活動を行った。

第一室では、腸管原虫症、特に赤痢アメーバ症・ジアルジア症・クリプトスポリジウム症・サルコシスチス症の診断法開発や疫学・分子疫学研究を行った。また赤痢アメーバの病原性・オルガネラ・代謝に関する研究を展開した。また、トキソプラズマの感染機構や植物様代謝経路の解明を行った。同時に、原虫特異的代謝経路を標的とした創薬研究を行った。また、自由生活性アメーバの起こす角膜炎ならびにこれに媒介される細菌感染症に関する疫学・分子疫学・病因学的な研究を行った。

第二室においては、食品由来寄生蠕虫症(アニサキス症、顎口虫症、肺吸虫症、横川吸虫症・異形吸虫症、裂頭条虫症、テニア症、マンソン孤虫症など)、ならびに動物由来寄生蠕虫症(エキノкокクス症、キンカジュール虫症など)を対象とし、遺伝子診断法や血清診断法開発のための基礎的研究、ならびに疫学的研究を行った。アニサキス症に関しては、感染源となる海産魚類に寄生するアニサキス種の地理的分布を調査した。肺吸虫症に関しては、国内症例に係わる感染源の解析・調査を進めた。裂頭条虫症に関連しては、感染源と考えられるシロザケにおける幼虫の寄生状況を調査した。土壌媒介寄生虫症に関しては、虫卵検出のための新たな検査方法の確立に取り組み、その方法で輸入キムチとエキノコ

ックス流行地で栽培された行者ニンニクの虫卵汚染状況を調べた。また本症の発生状況に関して、文献のおよび検査機関データを用いた解析に取り組んだ。さらに、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体(病理組織標本を含む)については、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、検査・診断のサポートを行った。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、シャーガス病などを主な研究対象としている。マラリアやシャーガス病は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、国内にもベクターとなるハマダラカが生息しており、また近年は輸血を介する感染の危険性も報告されており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの寄生虫症浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、国内での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行った。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部は、実際に検疫業務や途上国での寄生虫症対策にも応用されている。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する研究や原虫の増殖と休眠を規定する分子メカニズムの解析などの基礎研究を、赤痢アメーバ原虫・マラリア原虫・クルーズトリパノソーマなどを対象として進めた。

研究費としては厚生労働科学研究費補助金(インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、顧みられない寄生虫病の効果的監視法の確立と感染機構の解明に関する研究、アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究等)、文部科学省科学研究費補助金(新学術領域「マトリョーシカ型進化原理」、基盤研究、海外学術)、日本学術振興会二国間交流事業費、日本予防医学協会委託事業費等を取得した。

人事面では、再任用職員として山崎 浩、客員研究員として川中正憲、大前比呂志、武田正倫、荒木 潤、高宮信三郎、熊澤秀雄、記野秀人、松田 肇、千種雄一、亀井喜世子、協力研究員として渡辺恒二、柳川泰昭、川原史也、下河原理江子、黒木俊郎、岡本憲明、柴田勝優、荒川京子、梅原

梓里、坪川大悟、佐藤大竹マルセロ、二瓶浩一、流動研究員として Ghulam Jeelani, Avik Mukherjee, Koushik Das、研究生・実習生として花館有希、丸茂このみ、渡辺菜月、Arif Nurkanto、小池明人、福本準平、平井智浩、川野哲郎、宮本絵梨、山岸美菜、荒木球沙、鈴木桜織、Ratna Wahyuni が在籍し、研究等に従事した。更にインドネシアバイオテックセンター、BPPT からアイルランガ大学から Dwi Peni Kartikasari が共同研究員としてに約 2 ヶ月間共同研究に従事した。非常勤職員として、是澤千鶴子、岡村登喜子、臨時研究補助員として松崎素道、今田美穂子、中曽根英子、賀川千里、原 将子、長谷川早悠里が在籍し、研究等に従事した。

業績

調査・研究

I. 検査法・診断法・不活化法の開発

1. 蟻虫症診断法・検出法の開発

(1) エキノコックス症検査キットの評価

エキノコックス症(感染症法四類)の診断は、特徴的な臨床症状に加え、画像診断や血清診断によって行われる。しかし、北海道以外の非流行地において本症の血清診断は広く普及しておらず、当室で受け付けた依頼検査の中には民間の臨床検査会社で誤判定例が散見される。そこで本研究では、一般の検査会社でも十分な対応が可能となるよう、国内で入手可能な検査キットの信頼性を比較・評価した。今年度は単包性エキノコックス症の診断を目的としたウェスタンブロット法もしくはイムノクロマト法に基づく市販検査キットを比較するため、陽性対照群 30 検体および陰性対照群 30 検体を用いて両キットの検査感度を調べたところ、前者は 86.7%、後者は 43.3%と算定された。[森嶋康之、山崎 浩、杉山 広、大前比呂思]

(2) 実用化に向けた幼虫移行症複合検査キットの作成

幼虫移行症として重要なトキソカラ症、孤虫症、および顎口虫症の 3 疾患について、抗体検査を目的としたイムノクロマト法を用いた血清診断キットを疾患毎に作成してきた。そこで、平成 28 年度には、キットの実用化に向け、これら 3 疾患が同時に鑑別診断できる複合型検査キットの試作を行った。また、抗体検出系を従来の酵素系から金コロイド系に改良するとともに、被検血清と二次抗体を展開するための溶液をキ

ットデバイスに内蔵したことで、操作がより簡単になり、検査時間も 10 分に短縮された。キットの感度、ならびに特異性についても従来の酵素系のものと同等の評価結果であった。[山崎 浩, Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (タイ・コンケン大・医・寄生虫), 小林 薫, 高山勝好, 小林行治(アドテック株式会社)]

(3) 寄生蟻虫の遺伝子検査

寄生蟻虫症における原因種の正確な鑑別や同定は、確定診断の根拠を与え、適切な治療を行うためにきわめて重要である。しかし、形態学的鑑別は、形態が類似した寄生虫の鑑別に高度な専門知識が要求される。さらに虫体の変性、あるいは石灰化した場合には、寄生虫の形態的特徴が失われ、同定・鑑別は一層困難となる。そこで、遺伝子解析に基づき寄生虫種を同定・鑑別する方法が最も正確であるために、臨床検体を研究材料として、網羅的な遺伝子鑑別法の確立も目的として実施してきた。標的遺伝子として選択したのは、cytochrome c oxidase subunit 1 遺伝子 (cox1) や NADH dehydrogenase subunit 1 (nad1)、12S rRNA 遺伝子などミトコンドリアゲノムにコードされた領域などで、塩基配列に関する基礎的な情報を蓄積した。研究材料は当該部に依頼検査目的で国内外に由来する臨床検体(虫体や病理組織標本)を用いた。さらに、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も、寄生虫の種類ごとにプライマーの設定を含めた PCR 条件を詳細に検討した。解析した寄生虫の詳細はレファレンスの項に記載した。[森嶋康之、杉山 広、山崎 浩]

(4) 紫外線ブラックライトを発する懐中電灯型装置を用いたアニサキス幼虫簡易検出に関する検討

アニサキスの幼虫に紫外線ブラックライトを照射すると、虫体の外被が自家蛍光を発するために、その検出が容易になることが知られている。この現象を応用した検査装置も開発・販売されている(i-Spector, 株式会社イシダ)。一方で、紫外線ブラックライトを発する装置は、懐中電灯のような小型の製品が低価格で販売されている(3,000 円程度)。このような懐中電灯型装置を用いても、魚の内臓や筋肉などの表面に付着するアニサキス幼虫が、効率的に検出された。一方、虫体を筋肉内に挿入すると、蛍光は認めず、虫体を検出できなかった。この特徴は、市販の機材でも既に認識されていた。筋

肉内部に寄生してアニサキス食中毒の原因となるべき虫体を確実に検出するには、紫外線ブラックライトに関する検討(波長、照度など)や検査に供する魚の前処理(細切方法)に関する検討が今後さらに必要である。[杉山 広, 森嶋康之]

II. 疫学・型別・分子疫学的研究

1. 原虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

(1) 水道水質の評価及び管理に関する総合研究－微生物分科会－

医療機関を対象とした調査において、捨て水をしていない開栓直後の初流水からレジオネラ属菌が培養により検出され、汚染実態を改めて確認した。残留塩素の消失に伴う蛇口における従属栄養細菌数の増加とレジオネラ属菌による汚染が懸念され、捨て水や追加塩素等の対策が必要と考えられた。ウイルスに対する安全性が塩素消毒のみに依存しないように、凝集沈殿ろ過によるウイルスの除去性に関心が寄せられていた。全てのウイルスを個別に水道で検査するのは現実的ではなく、指標となるウイルスがあれば有用と期待される。指標ウイルスを提案するため、全国の水道事業者の協力を得て水道原水を収集し、ウイルス(アデノウイルス、コクサッキーウイルス、A型肝炎ウイルス、マウスノロウイルス、トウガラシ微斑ウイルス)を添加して人工原水とし、凝集沈殿ろ過による除去率を評価した。トウガラシ微斑ウイルスの除去率は各種ウイルスと同程度であることが再現され、指標として有効と考えられた。クリプトスポリジウムの河川汚染実態や対策の必要性を明らかにする目的で、相模川をモデルにクリプトスポリジウム汚染の実態を調査している。RT-PCR と塩基配列決定により、ブタ由来の遺伝子型のクリプトスポリジウムが多く検出され、汚染の実態を改めて確認した。養豚排水の対策が汚染の低減に必要と考えられ、低減方法を検討した。

[泉山信司、松下拓(北海道大学大学院工学研究院)、秋葉道宏(国立保健医療科学院)]

(2) 水道蛇口におけるレジオネラ汚染実態調査と追加塩素対策

水道蛇口におけるレジオネラ汚染の実態を明らかにし、汚染対策の確立を目指している。蛇口のレジオネラ検査を行い、汚染を改めて確認した。汚染が検出された1医療機関の協力を得て、追加塩素消毒を導入した。残留塩素がほとんど検出されていなかった給水末端の蛇口において遊離塩素濃度

が向上し、改善が期待された。

[泉山信司、黒木俊郎、大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹(神奈川県衛生研究所)]

(3) 配管内に付着した従属栄養細菌数の測定

配管の汚染状況を把握するため、従属栄養細菌数の測定を固体表面試料に応用した。平成25年度に検討した測定方法により配管実試料を測定し、20試料から従属栄養細菌が0~1,083 CFU/cm² 検出された。末端給水栓水の残留塩素濃度が適切に管理されていても、配管内には細菌が付着し、バイオフィームが形成されるおそれがあることを確認した。配管の汚染状況の把握には、従属栄養細菌数の測定は有効であった。

[松島有希子(桐生市水道局水質センター)、泉山信司]

(4) 飲料水兼用耐震性貯水槽における細菌叢の調査

国内の飲料水兼用耐震性貯水槽を対象として細菌叢を調査し、5つの貯水槽から23の16S rRNAの塩基配列を得た。水環境からの検出報告の多い、Sphingomonadales 目の細菌が飲料水兼用耐震性貯水槽における主要な細菌であった。いずれも芽胞は形成せず、塩素消毒の効果が期待できた。遊離残留塩素濃度を高めること、滞留時間を短くすること、バイオフィームを除去するための清掃を行うことが必要と考えられた。

[岸田直裕、秋葉道宏(国立保健医療科学院)、泉山信司、水野聡、小林華奈子、庭山秀一(新潟市水道局)、中嶋健二(浜松市上下水道部)、松島有希子(桐生市水道局)]

(5) 浄水中のクリプトスポリジウムの保存性

クリプトスポリジウムを添加した浄水を25℃で保存すると、14日間でクリプトスポリジウムが7割程、減少した。これは顕微鏡下で計数した結果であるが、遺伝子検査による結果も同様に減少傾向であった。クリプトスポリジウム等対策指針にある試料水の14日間保存は冷暗所で行うこととされるが、低温での保存が望ましいと考えられた。

[渡邊洋大、岡利彦(神奈川県企業庁水道水質センター)、泉山信司]

(6) 粉体ろ過法のレジオネラ属菌濃縮への適用

クリプトスポリジウム濃縮用の粉体ろ過法を、レジオネラ属菌

に応用した。クーリングタワーの冷却水等を試料として用い、粉体ろ過法と標準のフィルターろ過法でレジオネラ属菌をそれぞれ濃縮し、WYO 培地およびGVPC 培地で培養した。粉体ろ過法は、標準のフィルターろ過法と同等以上の検出率であった。

[橋本温(県立広島大学)、泉山信司]

(7) ジアルジア/クリプトスポリジウム抗原同時検出イムノクロマト(IC)の開発

2種類の原虫検出ラインにコントロールラインを加えた同時検出キット完成型を作成した。未凍結新鮮便の中に非特異反応が増強する場合があったことからブロッキングの条件に改良を加えた。感度試験ではジアルジア抗原0.5 μgタンパク/0.5ml、またクリプトスポリジウム抗原10 μgタンパク/0.5mlが検出限界と考えられ、臨床検体中の抗原量の推定が可能となった。糞便試料によって高速遠心で除去される微粒子が抗原抗体反応を阻害する可能性が示され、その対処法を検討中である。

[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生(アーク・リソース株)]

(8) 赤痢アメーバ抗原検出系の開発

赤痢アメーバの迅速検査のための抗原検出法開発を進めている。抗体作成のための抗原を選択するにあたり生体環境で認識されるnativeな抗原分子が重要と考え、構造的に抗原の多様性に関与すると考えられている細胞表面の糖鎖に関し、レクチンを用いた臨床分離株、標準株の糖鎖解析を行った。その結果、臨床株が標準株よりも糖鎖の多様性が高く抗原としての有用性が示唆された。またシスト壁成分のキチンの細胞内蓄積が認められる前シスト形成誘導が可能となり、シスト抗原として前シスト細胞が利用可能なことも明らかとなった。

[八木田健司、柳川泰昭(国立国際医療研究センターACC)]

(9) シカ肉に寄生する*Sarcocystis* の検出とDNA同定

近年ジビエとして知られるシカ肉において、馬肉喫食と同様のサルコシスティスによる有症事例が報告されている(青木ら、2014)。シカにおけるサルコシスティス感染率は高く、今後食中毒リスクの評価を要するものと思われるが、原因種、また汚染量に関するデータは極めて少ない。今回市販および狩猟にて入手したシカ肉よりサルコシスティスを単離し、個別にシーケンス解析を行い、エゾシカより2つ、ホンシュウジカより1

つの遺伝子タイプを明らかにした。さらに各タイプに特異的なPCR検出系を構築した。種類としては*S. pilosa* および*S. entzerothi*との関連が示されたが、従来考えられている*S. sybillensis*等シカ感染種との関係は不明であった。

[八木田健司、青木佳代(滋賀県衛生科学センター食品細菌)]

(10) シカ肉喫食による有症事例における*Sarcocystis* 遺伝子検査

滋賀県で報告された2例(2014年および2015年)、および茨城県で報告された1例(2016年)のシカ肉有症事例のシカ肉検体につき、サルコシスティス遺伝子検査を行った。DNAサンプルは厚労省通知のサルコシスティス検査法に基づき調整し、現在型別可能な3種類の遺伝子タイプに関するPCRを行った。その結果、3件の有症事例ではエゾシカにおいて検出された2種類の遺伝子型のサルコシスティスの関与が確認された。さらに汚染の定量化のための定量PCR系構築を進めている。

[八木田健司、青木佳代(滋賀県衛生科学センター食品細菌)、中本有美(茨城県衛生研究所細菌部)]

(11) ハウスダスト中のアメーバ類とアメーバ共生体調査

居住環境におけるアメーバ類とその共生体による暴露の可能性を想定し、暴露要因となり得るハウスダストからのこれらの微生物検出を行った。サンプルとして床ダストおよびエアコンフィルターのダストを回収し、Tween80 溶液でダストを洗浄ろ過後、遠心回収した沈殿物を大腸菌塗布寒天培地で培養した。増殖したアメーバコロニーは分離しATCC Medium 1034を用いて無菌培養した。解析の結果、床ダスト中にはほぼ年間通じアメーバを検出しエアコンフィルターは夏季2回の調査でアメーバ陽性であった。分離した*Acanthamoeba*には高率に共生体保有が認められ、16SrRNAシーケンス解析ではこれまで知られている共生体と一致していた。

[八木田健司]

(12) レジオネラ属菌のアメーバ感染促進物質

レジオネラ属菌の宿主アメーバ感染促進物質の探索を行った。探索物質の条件として、極性、荷電、親水性に影響を及ぼす可能性のあるものとし、低分子量(数百)から高分子量(分子量数万以上)のものを調べた。低分子量の物質には感染性に対する影響が見られなかった一方、高分子糖鎖のコンドロイ

チン硫酸およびデキストラン硫酸にヘパリンと同等の感染促進作用が認められた。ヘパリンを含むこれらはすべて硫酸基を分子構造中に一定の割合で含む硫酸化多糖であった。高分子糖鎖でも非硫酸化多糖のヒアルロン酸は、逆に感染抑制の作用を示した。硫酸化多糖類には環境中の難培養性レジオネラ属菌をアメーバ培養法でサルベージできる効果があることが期待される。

[八木田健司、泉山信司]

(13) HIV感染者におけるサイクロスポラ確定例

コクシジウムの1種であるサイクロスポラ*Cyclospora caetanensis*は旅行者下痢症の原因として国内症例がみられる一方、欧米諸国では、近年主に中南米原産の輸入生鮮食品を原因とするアウトブレイクが問題となっている。今回、エイズ関連胆管炎疑いで、インド帰りの下痢症患者の確定診断を行った。病理組織検査当初、微孢子虫感染が疑われた検体について、鏡検精査によりコクシジウム感染の所見を認め、感染形態よりクリプトスポリジウムを否定、糞便検査試行により自家蛍光を放つサイクロスポラオーシストを検出した。オーシスト抽出DNAを用いた18SrDNAのPCR検査とBLAST検索においてもサイクロスポラであることを確認した。

[八木田健司、関谷綾子(都立駒込病院感染症科)]

(14) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

従来トキソプラズマには基本的に3つのクローン(タイプ1-3)しか存在せず、またこれらのクローンはクローンごとにそれぞれ病原性や分離場所が異なっていることが報告され、トキソプラズマにおける分子タイピングの重要性の根拠となっていた。しかし最近南米を始め世界各地の分離株を用いた解析から、トキソプラズマは今まで考えられていたよりも少し多様性が高いことが明らかになるなど、トキソプラズマの分子タイピング研究は新たなステージを迎えている。一方で、南北米および欧州以外の地域、特に日本を含むアジア地域のトキソプラズマの分子タイピングはほとんど解析されておらず、数少ない報告も古典的な3タイプを区別できるレベルに留まっており、十分なものとはいえない。我々は日本分離株の収集、遺伝子タイピング、全ゲノムの決定を順次進めているが、今回新たにゲノム構造を解析した株の中に基本的には非病原性であるタイプ3と同一であるにもかかわらず、マウスに対する毒性を示す日

本由来株を見出した。現在、詳細なSNPs解析を行い、病原因子の探索を進めている。

[福本隼平、高島康弘(岐阜大学)、喜屋武向子(沖縄県衛生環境研究所)、松崎素道、永宗喜三郎]

(15) 輸血を介した感染を防御するための研究

世界では輸血用血液製剤によって、非流行国でもマラリア、シャーガス病、バベシアに感染する事例が報告されている。我が国では、輸血による感染事故を防ぐために、供血者の海外渡航歴と居住歴の問診を強化しているが、海外の報告例を鑑みると十分であるとは断言できない。そのため、現行の血液製剤の調整・保存耐性における原虫の生存率の検討を行った。

[案浦 健、中野由美子、佐山勇輔(日本赤十字社)、高倉明子(日本赤十字社)、野崎智義]

2. 蠕虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

(1) タイ、およびラオスに分布する無鉤条虫のミトコンドリアDNAによるハプロタイプネットワーク解析

無鉤条虫(*Taenia saginata*)は世界に広く分布し、東南アジア地域でも牛やヒトにおける感染が見られる。そこで、タイ東北部とラオス中部においてヒト患者から駆虫によって得られた無鉤条虫それぞれ21, 30個体についてcox1遺伝子の塩基配列解析を行った。その結果、タイの無鉤条虫21個体では8つ、ラオスの30個体では15のハプロタイプが検出された。さらに、GenBankに登録されている世界中の53ハプロタイプを加えたハプロタイプネットワーク解析を行った。その結果、世界の無鉤条虫は5つの遺伝的集団(A, B, C1, C2, D)に分けられ、タイ東北部とラオスの個体群はAまたはBに属した。一方、タイ西部の個体はC1, C2あるいはDに属し、タイ国内でも東北部と西部には地理的に異なる遺伝的集団が存在するという知見が得られた。

[山崎 浩, Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (タイ・コンケン大・医・寄生虫), Sakhone Laymanivong (ラオス厚生省マラリア・寄生虫・昆虫)]

(2) 症型アニサキス症の発生状況に関する文献調査

アニサキス症は我が国で年間に約7,000例の発生があるが、このうちの劇症型の発生状況を知るために、1991年以降の25年間に誌上報告された症例を医中誌Webから抽出して解析した。

その結果、報告症例393例中、劇症型は13例に留まることが分かった(呼吸困難10例、意識消失3例)。劇症型は極めて希少であるが、重篤な症状を惹起する虫体側の分子構造解析が、今後の重要な課題になると考えられた。

[森嶋康之, 賀川千里, 杉山 広]

(3)我が国のアニサキス症に関連する疫学調査

ア. シメサバ製品におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

海産魚介類を感染源とするアニサキス食中毒は、我が国固有の食習慣と関連した重要な食品媒介寄生虫症である。しかし感染源の中でも、流通品中のアニサキス幼虫の汚染実態に関しては、不明な点も多く、そこで市場に流通するシメサバ製品を対象に、アニサキスの寄生状況調査を実施した。その結果、シメサバ製品は90検体中の41検体(46%)にアニサキス幼虫を認めた(種同定できたものはすべて*Anisakis simplex sensu stricto*)。しかし虫体はいずれも死滅しており、アニサキス食中毒の危険性はないと判断された。なおシメサバ製品は、日本、ノルウェーおよびアイルランド産のサバを使用して製造されていた。国別に調べると、アニサキス幼虫の陽性率と検出数は日本産が共に最も高く、次いでノルウェー産で、アイルランド産は最も低かった。

[常盤俊大, 池 和憲(日獣大)、杉山 広, 森嶋康之]

イ. 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

2016年4～12月に都内の回転寿司店3箇所で購入したシメサバ寿司72検体を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、自家製のシメサバを使用する店舗では、購入して検査した40検体の内、7検体から合計14隻のアニサキス幼虫が検出された。1検体あたりの寄生数は1～3隻(平均2隻)で、このうちの3隻は生存しており、運動性があった(検出虫体はいずれも*A. simplex sensu stricto*)。一方で加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗では、32検体を購入して検査したが、いずれもアニサキス陰性であった。

[常盤俊大, 池 和憲(日獣大)、杉山 広, 森嶋康之]

ウ. マアジにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

日本海・東シナ海で漁獲され長崎港に陸揚げされたマアジを2016年1～12月に東京の鮮魚店で各月10尾ずつ購入し、検査の対象とした。その結果、陽性個体は65尾(54.2%)と予想

外に多く、しかも陽性魚1尾あたりの寄生数も平均7.0隻(1～94隻)であった。幼虫はほとんどが内臓に寄生していたが、1尾の筋肉から幼虫が1隻検出された。検出虫体はすべて*A. pegreffii*と同定された(筋肉寄生の1隻も*A. pegreffii*)。

[常盤俊大, 池 和憲(日獣大)、杉山 広, 森嶋康之]

エ. サケ(シロザケ)におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査・続報

前年度(2015年度)に続いて、サケにおけるアニサキス幼虫の寄生状況を調べた。6月～7月に漁獲された個体(トキシラズ)では、9尾中の5尾(56%)から合計7隻のアニサキス幼虫が検出された(すべて筋肉に寄生)。10月に漁獲された個体(アキザケ)では15尾中の12尾(80%)から合計40隻のアニサキス幼虫が検出された。40隻のうち35隻(88%)が筋肉、残り5隻は内臓から検出された。検出虫体は約9割が*Anisakis simplex sensu stricto*で、残りはhybrid genotypeであった。本邦近海で漁獲されるサケはアニサキス食中毒の重要な感染源であることに注目し、感染予防の啓発に取り組む必要がある。

[杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩]

オ. サクラマスにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査・続報

前年度(2015年度)に続いて、サクラマスにおけるアニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、17尾中の14尾(82%)から合計81隻のアニサキス幼虫が検出された。陽性魚1尾あたりの寄生数は平均5.8隻であり、サケよりも高い値を示した。しかし虫体の寄生部位は80隻(99%)が内臓で、筋肉から検出された虫体は1隻(1%)に留まった。検出虫体はほとんどが*A. simplex sensu stricto*で、ごく一部(2隻)がhybrid genotypeであった。サクラマスはサケ科の魚であり、アニサキスの寄生率が高いサケと同じく*Oncorhynchus*属に分類されるが、サクラマスではほとんどの虫体が内臓から検出され、アニサキス食中毒の原因として大きな問題はないと考察された。

[杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩]

カ. アニサキス感染リスクに対する魚販売者の対応に関する調査

鮮魚や加工品を取り扱う現場では、アニサキス幼虫をどのように検出・摘出し、アニサキス食中毒のリスクを軽減しているのか、自治体の担当者に尋ね(衛生研究所・保健所)、さらにウェブサイトからも情報の検索・収集を行った。

まずアニサキス幼虫を検出するためには、魚のフィレや切り身を肉眼で観察する「直接観察法」がしばしば適用されていた。一方で、紫外線ブラックライト照射するアニサキス検査装置(上述)を導入する店舗もあった。新鮮なうちに魚介類の内臓を摘出し、アニサキスの幼虫が魚の内臓から筋肉に移行することを防ぐという方法もしばしば採用されていた。また内臓に接する部分の筋肉(ハラミ)をアニサキスの好寄生部位としてとらえ、切り取って捨ててしまうことも行われていた。さらにサバの刺身・寿司には切り目を入れて客に提供するとの工夫もなされていた。

消費者への啓発として、鮮魚売り場の店頭に、「アニサキス症にならないための安全な食べ方:十分な加熱と-20℃で48時間以上の冷凍」、あるいは「鮮魚介類をご家庭で調理する際の注意:加熱・冷凍でアニサキス症を防ぐ」等の掲示を指導する自治体もあった。

[杉山 広, 森嶋康之]

(4) シロザケやサクラマスにおける日本海裂頭条虫幼虫の寄生状況調査(AMED 委託研究による)

わが国で見られる裂頭条虫症のほとんどは日本海裂頭条虫によるもので、シロザケやサクラマスに寄生する幼虫が感染源となる。そこで、前年度に続いてシロザケやサクラマスにおける日本海裂頭条虫の幼虫の感染実態を調査した。2016年には北海道厚岸沖で捕獲されたシロザケ(トキシラズ8尾、アキザケ20尾)、および青森県津軽海峡と新潟県村上市三面川で水揚げされたサクラマス17尾の計45尾について、筋肉と内臓に分けて調査したが、日本海裂頭条虫幼虫は検出されなかった。

[山崎 浩, 森嶋康之]

(5) 条虫の検査・診断法開発(AMED 委託研究)

条虫のDNA診断法確立のために、国内外の*Spirometra*属条虫の幼虫(プレロセルコイド、以下、孤虫と略す)を採取した。採集地はカンボジア北部のシムリアップ県にて、*Ptyas*属、および*Python*属のヘビより約100頭の孤虫を採取し、ミトコンドリアゲノムのcox1遺伝子の部分塩基配列解析(427 bp)を行った。その結果、解析が終了した11個体は全て*S. decipiens*と同定された。従来、アジアや欧州でヒトの孤虫症の原因種は*S. erinaceieuropaei*と考えられてきたが、実は*S. decipiens*によるものと考えられた。

[山崎 浩, Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (タイ・コンケン大・医・寄生虫), Un Mesa (カンボジア・シムリアップ・メサ病院)]

(6) 愛知県におけるエキノコックス流行調査

2014年4月、愛知県阿久比町で捕獲されたイヌ1頭に多包条虫感染が確認され、本州以南第二例目として届け出られた。当該犬は阿久比町の位置する知多半島に生息する野生化したイヌの1頭と考えられるため、これらのイヌにおけるエキノコックスの浸淫状況を知る目的で流行調査をおこなっている。2016年は6月および12月の2回、阿久比町とその周辺市町においてイヌ糞便135検体を採集し、PCR法による多包条虫特異的DNAの検出をおこなったところ、12月採取の1検体から陽性が検出された。2015年に続き、さらに一定期間を置いて陽性例が再検出されたことによりエキノコックス定着の可能性が示唆された。

[森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩, 八木欣平(北海道立衛生研究所)]

(7) 南米エクアドルでにおける *Amphimerus* 属肝吸虫の発生分布調査

同国の西北部・エスメラルダス県の集落で、約300人の住民に*Amphimerus*属肝吸虫の寄生があると2011年に発見した後、我々は疫学調査をエクアドルの各地で継続し、同国北～中西部(太平洋側)のサントドミンゴ県とマナビ県にも新たな流行地を見付けた。陽性の集落はいずれも熱帯雨林に覆われた比較的大きな河川に面し、住民は淡水魚を常食していた。そこで捕獲された20種類を超える淡水魚を精査した結果、Guabina および Ancha と呼ばれる淡水魚から本虫のメタセルカリアが多数検出され、本虫の第2中間宿主(感染源)として重要であることが分かった。魚から得た幼虫メタセルカリアの種同定には、患者由来の成虫を出発材料に我々が登録した遺伝子配列が、マーカーとして役立った(リボソームDNA・ITS2領域)。一部の魚からは異形吸虫類 *Haplorchis pumilio* のメタセルカリアも検出され、メタセルカリアの形態が *Amphimerus* 属肝吸虫と酷似することが注目された。異形吸虫 *H. pumilio* は、南米や東南アジアで人の下痢症の原因として問題視されている。したがってこれらの吸虫メタセルカリアを迅速・正確に同定・鑑別する新たな分子診断法を確立し、感染源対策にも取り組む必要がある。

[杉山 広, 森嶋康之, 高木秀和(愛知医大), 板垣 匡(岩手大)]

(8)2016年に発生した旋毛虫による集団食中毒事例の原因種

Trichinella spp.を原因とする旋毛虫症はほぼ世界各地で発生が認められ、クマ肉は重要な感染源の一つとみなされている。これまでクマ肉を原因とする国内集団感染例として3件が知られるが、1982年の三重県での発生を最後に途絶えていた。ところが、2016年末、茨城県内の飲食店において提供された北海道産ヒグマ肉を喫食した31名中21名が発疹や発熱等の症状を呈して医療機関を受診するという食中毒事件が発生した。特徴的な食歴および症状から旋毛虫症が疑われたため、冷凍保管されていた同一個体の肉を人工消化法により検査したところ、スティコソーム構造をもつ線虫幼虫が回収された。*cox1*領域およびITS-2領域について遺伝子解析をおこなった結果、本事例の原因種は*Trichinella* T9であることが明らかになり、国内発生した旋毛虫症としてリアルタイムに原因種の確定がなされた初めての例となった。

[森嶋康之、杉山 広、山崎 浩、八木田健司]

III. 分類・同定・臨床

1. 移植患者でのアメーバ性脳炎の国内初症例

国内で同種造血幹細胞移植後に発症した脳炎について、アメーバ性脳炎が疑われたことから遺伝子検査、および免疫組織的検査を行った。その結果、免疫組織学的に剖検脳組織病変部に*Acanthamoeba*陽性の所見を得たことに加え、18SrDNA遺伝子検査において*Acanthamoeba* DNA増幅を認め、シーケンス解析からこれまで非病原性と考えられてきたGroup1と同定。またその遺伝子型は2013年に初めて症例報告されたT18タイプのアメーバと98%一致した。今回の症例では患者抗体検査をしていないので感染時期および感染経路は不明であった。移植においては術後免疫低下ならびに不顕性感染ドナーからの感染リスクに注意が必要である。

[八木田健司、岡村登喜子]

IV. 生理・生化学・分子生物学

1. 原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

(1)原虫ゲノム情報の整備に関する研究

角膜炎患者のコンタクトレンズケースより分離された、*Acanthamoeba*に感染するウイルスゲノムを解析した。MiSeqによる読み取りとアセンブルの結果、1Mbものゲノムサイズがあり、1000強のORFが検出された。近縁の配列は、*Megavirus chilensis*であった。この様なゲノムサイズの大きい、いわゆる巨大核質ウイルスに共通する遺伝子も、多く保存されていた。しかし多くの遺伝子は機能が不明であった。本分離ウイルスが果たして角膜炎に関与するのか、疫学、検査診断等を進める上で、本ゲノム情報は有用と考えられた。*Entamoeba*株の解析は、リファレンス株の解析を進めた。従来の標準配列は20Mb強が約1,500コンティグに分断され、101遺伝子にNを含むなど多数のNをギャップとして含み、他の株を解析するための基準とするには難があった。PacBio RSIIを用いた読み取りができたことから、ゲノム配列のアセンブルを試みた。HGAPソフトウェアによるアセンブルでは、255コンティグと概ね良好な結果が得られたが、ゲノムサイズは16Mbと小さく、配列の不足が懸念された。Sprayソフトウェアでは、246コンティグとさらに向上し、ゲノムサイズは26.9Mbと欠落の心配がなく、より良い結果であった。

[泉山 信司、八木田 健司、津久井 久美子、Avik Kumar Mukherjee、岡崎 隆三、野崎 智義(寄生動物部)、関塚 剛史、黒田 誠(病原体ゲノム解析研究センター)]

(2)アカントアメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. メガウイルスの培養細胞に対する感染

*Acanthamoeba*を宿主とするメガウイルス(MV)は、培養細胞のveroおよびHCSCにも感染する。しかしその感染は致死的ではなく、一方で抗MV抗体に反応する物質の粒子状蓄積が細胞内に観察される。今回、電顕的に抗MV抗体陽性のvero細胞を観察した結果、感染1日および4日後の細胞で、感染*Acanthamoeba*内に見られるようなウイルス粒子はvero細胞の細胞質また核内に観察されず、また正常細胞には見られないウイルス工場のようなウイルス形成関連構造も特に確認できなかつた。抗MV抗体に反応する粒子に関しては免疫電顕での解析でその実体を明らかにする。

[八木田健司]

イ. レジオネラ属菌のアメーバ感染における糖鎖の関与

レジオネラ属菌は環境中でアメーバを宿主として増殖する。

菌の感染性はアメーバの種類また株により異なり、感染に関与する受容体とそのリガンドの多様性が想定される。今回、菌-アメーバ感染系を用いて糖鎖およびレクチンの関与を調べた結果、ConA とセルビオオースの試験から Glc 残基が、WGA とヘパリンの試験から GlcNAc 残基が、菌のアメーバ感染初期に関与していることが示された。WGA 等レクチンが感染阻害に作用する一方で、同じレクチンの ConA ならびに高分子多糖のヘパリンに逆の感染促進効果が認められた。ヘパリンについては BCYE 培養で経時低下する菌の感染性の回復作用、また低濃度の菌をアメーバで増殖する菌検出法において検出感度向上に働く可能性も示された。

[八木田健司、泉山信司]

(3)トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究
ア. トキソプラズマのカルシウム放出受容体様機能分子の探索

トキソプラズマの複雑な生活環のうち、滑走運動、侵入、そして宿主細胞からの脱出において Ca^{2+} 依存的な分子制御機構は極めて重要な位置を占めている。哺乳動物細胞において、 Ca^{2+} は主に ER に貯蔵され、ER から細胞質への Ca^{2+} 流出は inositol triphosphate receptor (IP_3R) と ryanodine receptor (RyR) が担っている。トキソプラズマにおいてもホスホリパーゼ C を活性化することで IP_3 産生を亢進する EtOH や、 RyR の活性化作用を持つリアノジン、カフェイン、あるいは cADPR により Ca^{2+} 依存的な分子の分泌や滑走運動の促進が起こる事から IP_3R と RyR の存在が示唆されているが、ゲノム上にこれらのタンパク質のオルソログは見出されない。そこで我々はトキソプラズマの IP_3 およびリアノジン受容体様機能分子の同定を目的として研究を行っている。昨年度までの研究により、我々はまず IP_3R 阻害薬である 2-APB 耐性原虫を確立し、全ゲノム配列を決定することにより責任遺伝子候補を同定することができた。そこで、この遺伝子をノックアウトした原虫を作製したところ、原虫の増殖能、 Ca^{2+} 依存性タンパク質分泌能、および宿主細胞への侵入能、マウスへの病原性のいずれの形質も明らかに低下していた。また、運動性についても明らかな変化が認められた。またこの遺伝子がコードするタンパク質は濃密顆粒膜上に局在していた。

[松崎素道、松原立真(筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎]

イ. トキソプラズマのミトコンドリア・リクルート因子同定の試み

トキソプラズマは宿主細胞に侵入した後、宿主細胞機能を様々に修飾することが知られている。中でも特に形態学的に顕著な変化として、宿主のミトコンドリアや ER を原虫が増殖している寄生胞近辺に引き寄せる(リクルートする)という現象が昔からよく知られている。本研究では原虫由来のどのタンパク質が宿主オルガネラのリクルートに関わっているのかを解明するために、定量可能な質量分析法である iTRAQ を用いて宿主ミトコンドリアに特異的に結合するトキソプラズマ由来タンパク質の網羅的な同定を行った。さらにこれらのタンパク質が実際に宿主ミトコンドリアと共局在していることを免疫染色法により確認し、その結果、原虫を感染後 3 時間、12 時間、24 時間経過した細胞から精製したミトコンドリアと、非感染細胞と原虫の混合試料から精製したミトコンドリアを iTRAQ により比較した。感染細胞ミトコンドリアで非感染細胞の 1.5 倍以上の存在量を示し、かつ、シグナル配列などのドメイン構造や相同性検索、また各種の既報のプロテオーム解析の結果を参照することで、リクルート因子候補タンパク質を同定し、これらの候補遺伝子を実際にトキソプラズマにおいて強制発現させ、リクルート能力が亢進した遺伝子として 3 種類を同定することができた。これらの遺伝子のうち、先行して 1 つの遺伝子についてノックアウトを行ったところ、野生株に比べて明らかにリクルート能力が低下していた。現在その他の候補遺伝子についても同様にノックアウト株を作成、解析中である。

[福本隼平(筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎]

(4)赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究
ア. 赤痢アメーバにユニークなマイトソーム膜タンパク質の同定

赤痢アメーバは嫌気環境へ適応した進化により、ミトコンドリアが縮退し、ATP 産生能力を失った痕跡オルガネラ・マイトソームを持つ。このユニークなオルガネラの理解を深めるため、以前我々が発見した α ヘリックスからなる膜貫通ドメインを持つマイトソームタンパク質の検索を行った。情報生物学的手法で赤痢アメーバゲノムデータから抽出された 25 の候補タンパク質のうち、20 について局在を解析したところ全てがマイトソーム様のドット状の局在を示したが、マイトソームタンパク質と共局在したのは 2 つであった。この 2 タンパク質は電子顕微鏡観察でもマイトソーム、特に内膜への局在が示唆された。赤痢アメーバマイトソーム内膜タンパク質の初めての発見であった。

[Herbert Santos, 今井賢一郎(産業技術総合研究所)、花館有希、深沢嘉紀(産業技術総合研究所)、小田俊之(産業技術総合研究所)、見市文香(佐賀大学)、野崎智義]

イ. 赤痢アメーバにおけるフォスファチジルイノシトール(3,4,5) 3-リン酸(PIP3) 結合タンパク質の解析

真核細胞において運動や食食はリン酸化されたフォスファチジルイノシトール(PIP)により制御されることが知られている。赤痢アメーバも PIP を有するが、そのエフェクターとなるタンパク質は保存されていない。以前同定した PIP3 結合タンパク質 7 つについてタグ付き高発現株を作成し、発現株が得られた 6 種類について PIP3 への特異的な結合を再確認した。一つの発現株ではエンドサイトーシスの有意な亢進が観察され、このタンパク質の遺伝子発現抑制はエンドサイトーシス、赤血球の食食、動物細胞障害活性の有意な低下が起こった。この分子は AGC ファミリーキナーゼの一つで、PIP3 を介したアクチン制御に重要な分子と考えられる。赤痢アメーバの運動、食食制御に新しい知見が得られることが期待される。

[Somlata, 津久井久美子、野崎智義]

ウ. 赤痢アメーバにおけるフォスファチジルイノシトール 3-リン酸(PI3P)エフェクターの同定、解析

赤痢アメーバにおいて食食胞の成熟過程に PI3P の関与が示されている。しかし既知のエフェクタータンパク質は保存されていない。PI3P シグナルの実体を明らかにするため、赤痢アメーバゲノムに存在する 2 種類の PX ドメインタンパク質の機能解析を行った。PX ドメインは既知の PI3P 結合ドメインである。HA タグとの融合タンパク質として発現させたところ両者とも細胞内膜への局在が観察され、PI3P 特異的結合が確認された。既知の PI3P の局在と同様に食食胞へも局在した。他種生物で PX ドメインを持つタンパク質がレトロマー複合体の膜局在に関与する事が知られている。今後赤痢アメーバレトロマー複合体との関係を明らかにしたい。

[渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子]

エ. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体の機能解析

我々が同定した赤痢アメーバにユニークなリソソーム酵素輸送受容体 cysteine protease binding protein family (CPBF)について、病原性との関与を明らかにする目的でムチンゲルを介した侵入効率を評価するトランスウェルアッセイを行った。

しかし再現性が悪かったため細胞外マトリックスのモデルであるマトリゲルに変更した。11 ある CPBF の遺伝子発現抑制株について侵入効率を評価し、CPBF2 遺伝子発現抑制株に有意な侵入効率の低下が認められた。CPBF2 は α -amylase の一つを特異的にリガンドとする。よって amylase と赤痢アメーバの組織侵入に関連がある事が予想され、現在検討中である。CPBF1 組換え体の発現について、リガンドとなる cysteine protease 5 (CP5)との同時発現によりリガンドとの結合能力の再現が可能であり、さらに活性のある CP5 合成に効果的と考えられる結果を得た。CPBF の受容体-リガンド結合の分子機構解明に向け、条件の最適化を進める。

[丸茂このみ、高島英造(愛媛大学)、坪井敬文(愛媛大学)、志波智生(京都工芸繊維大学)、原田繁春(京都工芸繊維大学)、富井健太郎(産業技術総合研究所)、野崎智義、津久井久美子]

オ. 赤痢アメーバ新規薬剤開発に関する研究

新規赤痢アメーバ薬の薬剤ターゲットとしてコエンザイム A 合成過程に関わる pantothenate kinase と dephospho-CoA kinase1、2 について研究を行った。各酵素の組み換えタンパク質に対する阻害活性を 400 種類の天然物ライブラリーに対して検討した。酵素活性が25%以下に低下した化合物を選び、さらに赤痢アメーバへの障害活性を検討し、合計 4 種類の候補化合物を見出した。今後赤痢アメーバへの効果、哺乳動物細胞への毒性を検討する。

[Arif Nurkanto, Ghulam Jeelani, 野崎智義]

カ. 赤痢アメーバポリアミン代謝の解明

タンパク質伸長因子である eIF5A はポリアミンであるスペルミジンが付加(ハイプシン化)することが知られる唯一のタンパク質であり、原核生物を含むすべての生物に保存されている。赤痢アメーバにも eIF5A が存在しているがハイプシン化の最終過程に必須な deoxyhypusine hydroxylase (DOHH)がゲノムに存在しない。これは水酸基のない未熟なハイプシン化修飾を受けた eIF5A がスペルミジン、ホモスペルミジン合成に関与する可能性を示唆する。抗ハイプシン抗体を用い、赤痢アメーバにおけるハイプシン修飾を検討したところ、タグ融合 eIF5A 発現株でタグ融合、内因性双方の eIF5A が検出されたことから赤痢アメーバではユニークな酵素が DOHH 活性を持つと考えられた。また、2 種類ある eIF5A (eIF5A1, 2)のうち

eIF5A1のみウエスタンブロットで複数のバンドが検出され、既知のチロシン硫酸化、リジンアセチル化が否定された一方ハイブシン化が観察された。赤痢アメーバの翻訳過程にユニークな分子メカニズムが予想された。

[Ghulam Jeelani, 野崎智義]

キ. 赤痢アメーバにおけるグリセロール代謝と酸化ストレスの関係解明

嫌気環境に適応した赤痢アメーバにおいて酸化ストレスの回避は生存に必須である。以前我々はパラコートを用いた酸化ストレス条件下、解糖系の中間産物である dihydroxyacetone phosphate が glycerol 3-phosphate dehydrogenase(G3PDH)と glycerol kinase (GK)によりグリセロールに代謝されることを見出した。代謝産物であるグリセロールの蓄積と抗酸化効果の関係は低いと考えられ、この代謝系を活性化させる意義が不明であった。そこで、G3PDH, GK によりそれぞれNAD⁺, ATP が産生されることに着目し、これらの酵素活性が抗酸化効果を生むと考え解析を行った。G3PDH, GK それぞれについてタグ付きタンパク質高発現株の樹立、遺伝子発現抑制株を樹立し酸化ストレス条件下での増殖を検討した。しかし増殖に変化は観察されなかった。今後酸化ストレスに伴う各酵素の細胞内局在に変化など、他の表現型を検討する。

[山岸美菜、Ghulam Jeelani, 野崎智義]

ク. 赤痢アメーバオートファジーの解析

(i) 赤痢アメーバ Atg8 の系統解析

オートファジー(自食作用)は真核生物に広く保存している分子過程である。赤痢アメーバにおいてもオートファジーのマーカー分子であるAtg8とこの脂質修飾に関与するAtg3, 4, 7, はホモログが存在し、Atg5/12-16複合体についても我々が同定し、その存在が明らかとなった。しかし様々な観察より、赤痢アメーバの機能は他種生物と異なる点が多い。そこでユニークな機能を持つ赤痢アメーバ Atg8 の由来を明らかにする目的で系統解析を行った。真核生物の代表的な系統群より35生物種から48種のAtg8配列を取得し、Mafft (v7.305b)でアライメントした後さらに配列の調整を行った。アライメントされた100アミノ酸について最尤法にて系統解析を行った。この結果、Entamoeba属のAtg8のみが突出した枝長を示し、進化速度が極端に速いことが示された。今後他のAtgタンパク質について同様の知見が得られるのか検討する。

[宮本絵梨、野崎智義、橋本哲男(筑波大学)、津久井久美子]

(ii) Atg8 結合タンパク質の同定

赤痢アメーバ Atg8 のユニークな機能を知るため、Atg8 結合タンパク質を同定したところ、複数の解糖系酵素を見いだした。そこで Atg8 の解糖系制御における機能を解明するため、グルコース除去条件下での増殖速度と解糖系酵素の活性を検討した。Atg8 遺伝子発現抑制株はコントロール株に比べ低グルコース条件下で誘導機の延長が観察された。また、Atg8 との結合が観察された fructose-1,6-bisphosphate aldolase と triosephosphate isomerase(TPI)の活性を検討したところ、Atg8 遺伝子発現抑制株において TPI はグルコース除去培地における活性低下が観察されなかった。よって Atg8 が赤痢アメーバ解糖系の制御に関与することが示唆された。

[宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子]

ケ. 赤痢アメーバ脂質輸送タンパク質の解析

生物の生存に細胞膜系は必須である。膜を構成する脂質は主に小胞体で合成され、脂質結合ドメインを持つ脂質輸送タンパク質により各オルガネラに輸送される。輸送タンパク質のうち、転写解析で発現のあった11のなかから4種類について高発現株、遺伝子発現抑制株を作成し解析を行った。遺伝子発現抑制株は全て増殖速度の低下が観察され、生存に重要な働きをする事が示された。高発現により動物細胞への障害活性が亢進し、遺伝子発現抑制により障害活性は低下した。GFP 融合タンパク質を作成し、局在を検討したが細胞質に広く分布したため特定のオルガネラとの関連は結論できなかった。さらなる検討を加え、赤痢アメーバにおける脂質輸送の重要性、特異性を明らかにしたい。

[Koushik Das, Ghulam Jeelani, 野崎智義]

コ. 赤痢アメーバの膜輸送: 食食における EhRab8A の解析と EhRab8A 結合タンパク質の同定

EhRab8A は赤痢アメーバの食食に必要な細胞表面タンパク質の輸送に関与している。EhRab8A の GTP 結合活性型変異株と EhRab8A 発現抑制株は食食効率が低下しており、EhRab8A が食食に重要な表面レセプター輸送に関与することを裏付けた。他種生物とは異なり EhRab8A の細胞内局在はエンドソーム系ではなく、小胞体であった。EhRab8A が輸

送する表面タンパク質を同定するために、免疫沈降法を用いて EhRab8A の結合タンパク質の同定を行ったところ、リン脂質フリッパーゼの beta subunit である Cdc50 ホモログを同定した。Cdc50 を大量発現させると Cdc50 は小胞体に局在し、フォスホコリンアナログのミルテフォシンに対する耐性を獲得した。EhRab8A 発現抑制株もミルテフォシンの耐性が得られたことから、EhRab8A は小胞体で Cdc50 の選別輸送を行っていると考えられた。

[花館有希(筑波大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

サ. 赤痢アメーバの病原性に関与する Rab11B とそのエフェクタータンパク質の解析

赤痢アメーバが分泌する主要な細胞傷害性因子として、システインプロテアーゼ (CP) が報告されている。赤痢アメーバの CP の分泌機構をさらに解明するために、本研究では Rab11B の活性制御を行うエフェクタータンパク質の同定と機能解析を行った。Rab11B-GTP 型アフィニティカラムから溶出されたタンパク質を質量解析によって同定した結果、アダプター複合体の大サブユニット β -adaptin と γ -adaptin、およびエキソシスト複合体の Sec6 のホモログを得た。哺乳類細胞では、Rab11 がエキソシスト複合体の別の因子である Sec15 に結合することが、Rab11 の形質膜への輸送に必要であることが報告されている。Rab11 とエキソシスト複合体の Sec15 以外の因子との相互作用は報告されておらず、赤痢アメーバ特異的な機構を介した細胞外分泌の制御が存在する可能性がある。

[川野哲郎(筑波大学)、中野由美子、Gil M. Penuliar (フィリピン大学)、野崎智義]

シ. 赤痢アメーバの薬剤耐性の研究に関わるミューテーター株の作成

マラリア原虫では、DNA ポリメラーゼの修復機能を欠損させた変異型 DNA ポリメラーゼを発現させ、高頻度突然変異マラリア原虫ライブラリー(ミューテーター)が作製されている。これまで、ミューテーターマラリア原虫から既存のマラリア薬の耐性株を薬剤選択し、臨床単離株よりも早期に耐性変異の解析が可能となっている。赤痢アメーバなどの腸管内下痢症原虫でもミューテーターを用いた薬剤耐性遺伝子を解析する目的で、変異型 DNA ポリメラーゼにタグを付加し、エピソ

ーマルプラスミドで維持する形質転換赤痢アメーバを作成した。その結果、N 末端の核移行シグナルの直後のループにタグを挿入したコンストラクトが核内に移行できることが分かった。

[中野由美子、平井誠(順天堂大)、野崎智義]

ス. 新規糸状菌代謝産物 ovalicin の赤痢アメーバ肝膿瘍に対する治療効果

アメーバ赤痢の治療はメトロニダゾールに長く依存した状況にあるため、この薬に耐性を持つ赤痢アメーバが出現する可能性がある。我々は新薬の必要性を感じ、約 7,000 種の微生物培養液から、ヒト細胞に対する毒性が低く、かつ強力な殺赤痢アメーバ活性を示すものを探した結果、糸状菌の代謝産物 ovalicin を見出した。Ovalicin を赤痢アメーバ症肝膿瘍モデルハムスターに皮下投与するとメトロニダゾールの 1/10 量の投与量で治療効果を示し、毒性もみられず、有効性を確認することができた。

[森 美穂子(北里大)、中野 由美子、柘植 聡志(北里大)、大村 智(北里大)、塩見 和朗(北里大)、野崎 智義]

セ. インドとの抗原虫薬の共同開発

赤痢アメーバ、ジアルジア、マラリアなどの原虫感染症はアジア地域に流行しており、常に国内への移入の危険性がある。また流行地では薬剤耐性原虫の出現も報告されている。インドの共同研究者のグループと殺アメーバ作用を有する薬剤を探索したところ、植物由来の化合物ウルソン酸と、インドで抗リーシュマニア薬として使用されているミルテフォシンに *in vitro* での殺アメーバ作用があることを見いだした。ウルソン酸はジアルジアにも *in vitro* の抗原虫作用を示した。赤痢アメーバの培養標準株に対するミルテフォシンの LD₅₀ 濃度は 34.1 μ M であり、49 μ M ミルテフォシンの存在下でも生育可能な耐性株を選択することができた。このミルテフォシン耐性赤痢アメーバ株は、他の抗原虫薬であるメトロニダゾール、クロロキン、フマギリンには耐性を示さず、ミルテフォシンに特異的な耐性株であることが分かった。インドではミルテフォシン耐性リーシュマニア原虫の出現が報告されており、耐性遺伝子の存在も報告されている。リーシュマニア原虫では細胞膜上のトランスポーターに変異が挿入されることで、ミルテフォシン耐性を獲得するが、赤痢アメーバでのホモログ領域をシークエンスしたところ変異の挿入は見いだされなかった。この

結果は、赤痢アメーバとリーシュマニアではミルテフォシンの耐性メカニズムが異なることを示している。

[中野由美子、Sandipan Ganguly(インド, NICED)、Dibyendu Raj (インド, NICED)、川野哲郎、花館有希、野崎智義]

(5) マラリア原虫の肝内型・赤内型寄生病原学に係る解析

ア. 寄生胞膜(PVM)を中心とした肝内型マラリア原虫-宿主間相互作用の解明

マラリア原虫が感染する宿主肝細胞は様々な排除応答などが可能であることから、肝内型原虫による巧妙な宿主マニピレーションが必要になることが予想されるが、その詳細は未だほとんど明らかとなっていない。肝内型原虫は宿主細胞内で PVM を形成し、宿主と隔たりを設けることで寄生を成立させることから、PVM は原虫と宿主のせめぎ合い・双方の分子応答の“場”であるため、この PVM を中心とした原虫-宿主間相互作用の解明を試みた。これまでに我々は、宿主の分解排除応答の一つであるオートファジーのマーカー分子である LC3 が肝内型原虫の感染初期に特異的に蓄積するが肝内型原虫は分解されないことを見出した。今後、この宿主 LC3 が肝内型原虫に蓄積する(分解を逃れる)分子メカニズムの解明を試みる。

[案浦健、荒木球沙、長谷川早悠里、川上泰(麻布大学)]

イ. 肝内型マラリア原虫の宿主細胞内生存分子メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫は、宿主肝細胞内で分解排除応答を回避しながら生存することから、特異的な分子メカニズムが必要であると考えられるが、その詳細は明らかとなっていない。我々は、Loss-of-function スクリーニング解析から、肝内型原虫に特異的な新規機能分子 NG2 を見出した。この NG2 の機能を明らかにするため、今井・富井ら(産総研)と共に推定構造解析を行ったところ、NG2 はトランスポーターである可能性が示された。NG2 の詳細な機能解析を行うため、哺乳類細胞を用いて一過性の遺伝子発現が可能で発現株の作製を行った。今後、NG2 の原虫細胞内局在性や輸送基質の同定を試みることで、肝内型原虫の宿主内生存に果たす NG2 の役割を明確にする。

[案浦健、荒木球沙、長谷川早悠里、今井賢一郎(産業技術総合研究所)、富井健太郎(産業技術総合研究所)]

ウ. 肝内型マラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫の増殖期は、一細胞内に最大数万の多核体を短時間で形成し増殖することから、その制御メカニズムは極めて興味深い。その分子機構は未だほとんど明らかとなっていない。真核生物の細胞増殖には様々な分子制御が報告されているが、そのうちの一つにヒストンのメチル化による制御が知られている。マラリア原虫におけるヒストンメチル化制御は、阻害剤を用いた研究から発育ステージ間により異なる制御を担う可能性が示唆されている。これまでに我々が詳細な *in silico* 解析を実施したところ、新たなヒストンメチル化を担う酵素遺伝子の存在が示唆された。そこでこの新規推定ヒストンメチル酵素の遺伝子の破壊原虫株の作製を試みた。今後、発育ステージ特異的強制発現株の作製や、各種酵素アッセイを試みることでマラリア原虫の増殖におけるヒストンメチル化修飾が果たすメカニズムを明らかにする。

[案浦健、荒木球沙]

エ. 新たなマラリア感染 *in vivo* モデル作出の試み

ヒトマラリアの *in vivo* 感染モデルは、非常に限られた施設でしか行うことが出来ず研究開発は困難を強いられる。特に、韓国で再興感染症として猛威を振るバイバックスマラリアは、*in vitro* 培養が困難であり、*in vivo* 感染モデルの研究開発はさらに困難を極める。そこで本課題では、医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センターと連携することで、霊長類を用いた新たなマラリア感染 *in vivo* モデル作出(特にハマダラカからの感染モデルの作出)の実用化を試みる。これまでに複数回のハマダラカへの感染実験を実施しており、サルマラリア原虫感染ハマダラカの作出に成功している。今後、更なる改良・調整を行うことで、より効果的なモデル系の作出を試みることで創薬開発への発展を検討する。

[案浦健、荒木球沙、長谷川早悠里、川合覚(独協医大)、保富康宏(医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター)]

オ. 赤内型マラリア原虫の感染赤血球経への輸送機構の解析

赤血球の中に寄生するマラリア原虫は、感染赤血球に多くの抗原タンパク質を輸送するが、感染赤血球への抗原タンパク質の輸送機構は十分に解明されていない。真核生物の膜輸送の分子スイッチとして Rab GTPase が挙げられ、マラリア原虫を含むアピコンプレキサ門原虫には、N 末端側がアシル化

された特殊な Rab5b GTPase が存在する。PfRab5b は寄生胞の感染赤血球側に輸送されることから、PfRab5b に制御される特殊な輸送経路の同定を目指し、共免疫沈降法による結合タンパク質の網羅的探索を試みた。その結果、ゴルジ体に局在するタンパク質 Sec7, Arf1, Rab1 GTPase の他、寄生胞に局在す膜タンパク質の ETRAMP10.2, Pfs16 のを同定した。よって PfRab5b はゴルジ体周辺から出芽して寄生胞に輸送する新規の経路を制御していると考えられた。

[平井智浩(筑波大学)、海老根一生(東京大学)、野崎智義、中野由美子]

レファレンス業務

I. 衛生微生物技術協議会・レファレンスセンター会議

第 37 回衛生微生物技術協議会(7月 21~22 日, 広島)においてレファレンスセンター等関連会議「寄生虫」を担当した。寄生虫の検査法に関するミニシンポジウム形式の会議として情報の共有を図った。寄生虫性食中毒・有症苦情事例に関しては、引き続きサーベイランスを強化し、情報の交換を活発に行うことを確認した。

[杉山 広, 八木田健司, 泉山信司, 森嶋康之, 案浦 健, 野崎智義, 大西貴弘(国立衛研)]

II. 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関(医療機関、地方衛生研究所等)の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。

[八木田健司, 泉山信司, 津久井久美子, 永宗喜三郎]

台湾 CDC・陽明大学との共同研究により赤痢アメーバの疫学、分子疫学研究を継続して行った。台湾 CDC より供与された無症候性シストキャリアの検体由来の赤痢アメーバ株 2 株のゲノムデータの解析を進めた。

[津久井久美子, 泉山信司, Avik Mukherjee, 野崎智義, Dar-der Ji(陽明大学)]

マラリアについては、外部の医療機関からマラリア原虫の種同定の検査依頼と診断についての相談を 6 件受け入れ、形態検査の再確認と遺伝子検査を併用して同定した。

[案浦健, 中野由美子]

III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成 28 年度には、計 53 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 38 件が寄生虫症と確定診断された。

(1) 免疫学的方法による寄生虫症検査

線虫 7 種(ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、条虫 4 種(有鉤囊虫、マ Manson 弧虫、多包虫、単包虫)、吸虫 6 種(ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、日本住血吸虫、Manson 住血吸虫)の抗原を用いた抗体検査が可能であるが、エキノコックス症と有鉤囊虫症については、それぞれ市販のウエスタンブロット法によるキットを用いた。トキソカラ症、肺吸虫症、および Manson 孤虫症に関しては、当部で開発したイムノクロマト迅速血清検査キットを用いた。免疫学的検査依頼件数 12 検体のうちエキノコックス症と有鉤囊虫症の各 1 検体で特異抗体が検出された。

[森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩]

(2) 遺伝子解析等による寄生虫症検査

各種臨床検体中に見出された虫体(様物)の同定依頼数は 41 件あり、遺伝子の塩基解析結果もしくは形態学的観察に基づいて種の同定を行った。その結果 35 例が寄生虫で、遺伝子解析では、条虫症:無鉤条虫(11)、日本海裂頭条虫(9)、アジア条虫(3)、豆状条虫(1)、*Bertiella studeri*(1)、線虫症:*Anisakis simplex sensu stricto*(3)、犬糸状虫(1)、日本顎口虫(1)、*Trichinella* T9(1)、東洋毛様線虫(1)、*Pseudoterranova decipiens sensu lato*(1)、吸虫症:*Paragonimus westermani*(3n)(2)、形態学的観察では線虫症:縮小条虫(1)であった。

[森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩]

研修業務・審議会など

平成 28 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習(国立保健医療科学院主催)にて、水道原水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った(6 月)。

[八木田健司, 泉山信司]

「平成 28 年度 FETP 初期研修」、国立感染症研究所 感染症疫学センター、講義内容「性感染症としてのアメーバ赤痢と輸入感染症としてのマラリア」場所国立感染症研究所戸山庁

舎、平成 28 年 4 月 [中野由美子]

「平成 28 年度感染症検査技術研修会」、講義内容「マラリア概論と簡易検査キット」国立感染症研究所村山庁舎、平成 28 年 6 月 [案浦健、中野由美子]

「平成 28 年度 第二回 安全な血液確保による感染症予防」研修、熊本医療センター、および独立行政法人国際協力機構(JICA)、講義内容「マラリア」実習、場所国立感染症研究所戸山庁舎、平成 29 年 1 月 [案浦健、中野由美子]

国際協力関業務

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説(欧文)

Hanadate, Y., Saito-Nakano, Y., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Endoplasmic reticulum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell Microbiol.* 18(10):1358-73, 2016 doi: 10.1111/cmi.12570.

Ishikane, M., Arima, Y., Kanayama, A., Takahashi, T., Yamagishi, T., Yahata, Y., Matsui, T., Sunagawa, T., Nozaki, T., and Oishi, K. Epidemiology of domestically-acquired amebiasis in Japan, 2000-2013. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 94(5):1008-14, 2016. doi: 10.4269/ajtmh.15-0560

Verma, K., Nozaki, T., and Datta, S. Role of EhRab7A in phagocytosis of type 1 fimbriated *E. coli* by *Entamoeba histolytica*. *Mol. Microbiol.* 102:1043-1061, 2016. doi: 10.1111/mmi.13533. PMID:27663892

Chiba, Y., Makiuchi, T., Jeelani, G., and Nozaki, T. Heterogeneity of the serine synthetic pathway in *Entamoeba* species. *Mol Biochem Parasitol.* 207(2):56-60, 2016. doi:10.1016/j.molbiopara.2016.06.002.

Nakada-Tsukui, K. and Nozaki, T. Immune response of amebiasis and immune evasion by *Entamoeba histolytica*.

Front Immunol. 7:175, 2016. doi: 10.3389/fimmu.2016.00175. Review.

Kobayashi, T., Watanabe, K., Yano, H., Murata, Y., Igari, T., Nakada-Tsukui, K., Yagita, K., Nozaki, T., Kaku, M., Tsukada, K., Gatanaga, H., Kikuchi, Y., Oka, S. Underestimated amoebic appendicitis among HIV-1-infected individuals in Japan. *J Clin Microbiol.* 55:313-320, 2016. doi: 10.1128/JCM.01757-16. PMID:27847377.

Kazama, M., Ogiwara, S., Makiuchi, T., Yoshida, K., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., Tachibana H. Behavior of DNA-lacking mitochondria in *Entamoeba histolytica* revealed by organelle transplant. *Sci Rep.* 7:44273, 2017. doi: 10.1038/srep44273. PMID:28287148

Somlata, Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T. AGC family kinase1 participates in trogocytosis but not in phagocytosis in *Entamoeba histolytica*. *Nat Commun* in press.

Ybañez, R.H., Leesombun, A., Nishimura, M., Matsubara, R., Kojima, M., Sakakibara, H., Nagamune, K., Nishikawa, Y. “*In vitro* and *in vivo* effects of the phytohormone inhibitor fluridone against *Neospora caninum* infection.” *Parasitol. Int.* 2016, 65 (4), 319-322

Tahara, M., Andrabi, S.B., Matsubara, R., Aonuma, H., Nagamune K. “A host cell membrane microdomain is a critical factor for organelle discharge by *Toxoplasma gondii*.” *Parasitol. Int.* 2016, 65 (5), 378-388

Ihara, F., Nishimura, M., Muroi, Y., Mahmoud, M.E., Yokoyama, N., Nagamune, K., Nishikawa, Y. “*Toxoplasma gondii* Infection in Mice Impairs Long-Term Fear Memory Consolidation Through Dysfunction of the Cortex and Amygdala.” *Infect Immun.* 2016, 84 (10), 2861-2870

Sakamoto, H, Suzuki, S., Nagamune, K., Kita, K., Matsuzaki, M. “Investigation into the Physiological Significance of the Phytohormone Abscisic Acid in *Perkinsus marinus*, an Oyster

- Parasite Harboring a Non-Photosynthetic Plastid.” J. Eukaryot. Microbiol. 2016, DOI: 10.1111/jeu.12379
- Andrab, S.B.A., Tahara,M., Matsubara,R., Toyama,T., Aonuma,H., Sakakibara,H., Suematsu,M., Tanabe,K., Nozaki,T., Nagamune, K. “Plant hormone cytokinins control cell cycle progression and plastid replication in apicomplexan parasites.” Parasitol. Int. 2017, *in press*
- Kobayashi T.,Watanabe K., Yano H., Murata Y., Igari T.,Nakada-Tsukui K., Yagita K., Nozaki T.,Kaku M., Tsukada K., Gatanaga H., Kikuchi Y. and Oka S. Underestimated Amoebic Appendicitis among HIV-1-Infected Individuals in Japan. Journal of Clinical Microbiology, 55(1), 313-320, 2017
- Furukawa M., Minegishi Y., Izumiyama S., Yagita K., Mori H., Uemura T., Etoh Y., Maeda E., Sasaki M., Ichinose K., Harada S., Kamata Y., Otagiri M., Sugita-Konishi Y., Ohnishi T. The Development of a Novel, Validated, Rapid and Simple Method for the Detection of *Sarcocystis fayeri* in Horse Meat in the Sanitary Control Setting. Biocontrol Science, 21(2),131-4, 2016
- Sriastava VK, Chandra M, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Datta S. Crystal structure analysis of wild type and fast hydrolyzing mutant of EhRabX3, a tandem Ras superfamily GTPase from *Entamoeba histolytica*. J. Mol. Biol. (2016) 428(1), p41-51.
- Ebine K, Hirai M, Sakaguchi M, Yahata K, Kaneko O, Saito-Nakano Y. Plasmodium Rab5b is Secreted to the Cytoplasmic Face of the Tubovesicular Network in Infected Red Blood Cells Together with N-acylated Adenylate Kinase 2. *Malaria J.* (2016) 15:323. doi:10.1186/s12936-016-1377-4
- Janwan P., Intapan P.M., Yamasaki H., Rodpai R., Laumauwai P., Thanchomnang T., Sanpool O., Kobayashi K., Takayama K., Kobayashi Y., Maleewong W. Development and usefulness of an immunochromatographic device to detect antibodies for rapid diagnosis of human gnathostomiasis. Parasites and Vectors, 9: 14, 2016.
- Yamasaki H., Sekikawa Y., Oda R., Hongo I., Tsuchida T., Kumazawa H., Saito N., Morishima Y., Sugiyama H. First confirmed human case of *Diphyllobothrium stemmacephalum* infection and molecular verification of the synonymy of *Diphyllobothrium yonagoense* with *D. stemmacephalum* (Cestoda: Diphylobothriidea). Parasitology International 65: 412-421, 2016.
- Fujita T., Waga E, Kitaoka Keisuke, Imagawa T., Yuuya Komatsu Y., Takanashi K., Anbo F., Anbo T., Katuki S., Ichihara S., Fujimori S., Yamasaki H., Morishima Y., Sugiyama H., Katahira H. Human infection by acanthocephalan parasites belonging to the genus *Corynosoma* found from small bowel endoscopy. Parasitology International 65:491-493, 2016.
- Thanchomnang T., Tantrawatpan C., Intapan P. M., Sanpool O., Janwan P., Lulitanond V., Tourtip S., Yamasaki H., Maleewong W. Rapid identification of nine species of diphylobothriidean tapeworms by pyrosequencing. Scientific Reports 6:37228, 2016.
- Morishima Y, Tomaru Y, Fukumoto S, Sugiyama H, Yamasaki H, Hashimoto H, Harada K. Canine echinococcosis due to *Echinococcus multilocularis*: a second notifiable case from mainland Japan. Jpn J Infect Dis 69, 448-449.
- Sun MM, Ma J, Sugiyama H, Ando K, Li WW, Xu QM, Liu GH, Zhu XQ. The complete mitochondrial genomes of *Gnathostoma doloresi* from China and Japan. Parasitol Res 115, 4013-20, 2016.
- Baird FJ, Su X, Aibinu I, Nolan MJ, Sugiyama H, Otranto D, Lopata AL, Cantacessi C. The *Anisakis* transcriptome provides a resource for fundamental and applied studies on allergy-causing parasites. PLoS Negl Trop Dis 10(7):e0004845, 2016

- Nogami Y, Fujii-Nishimura Y, Banno K, Suzuki A, Susumu N, Hibi T, Murakami K, Yamada T, Sugiyama H, Morishima Y, Aoki D. Anisakiasis mimics cancer recurrence: two cases of extragastrointestinal anisakiasis suspected to be recurrence of gynecological cancer on PET-CT and molecular biological investigation. *BMC Med Imaging* 16:31, 2016
- Tokiwa T, Sugiyama H, Taira K, Yoshikawa Y, Une Y. Prevalence of *Baylisascaris* roundworm in captive kinkajous in Japan. *J Parasitol*, 102, 293-294, 2016
- Calvopina M, Romero-Alvarez D, Macias R, Sugiyama H. Severe pleuropulmonary paragonimiasis caused by *Paragonimus mexicanus* treated as tuberculosis in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg*, 94, 97-99, 2016
- Hayashi K, Mohanta UK, Ohari Y, Neeraja T, Singh TS, Sugiyama H, Itagaki T. Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Explanatum explanatum* in India based on nucleotide sequences of ribosomal ITS2 and the mitochondrial gene *nad1*. *J Vet Med Sci* 78, 1745-1748, 2016
- Itoh N, Tsukahara M, Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Kurai H. *Paragonimus westermani* infection mimicking recurrent lung cancer: A case report. *J Infect Chemother*, 22, 815-818, 2016
- Tsubokawa D, Sugiyama H, Mikami F, Shibata K, Shibahara T, Fukuda K, Takamiya S, Yamasaki H, Nakamura T, Tsuji N. Collection methods of trematode eggs using experimental animal models. *Parasitol Int.* 65, 584-587, 2016
- Bautista-López NL, Ndao M, Camargo FV, Nara T, Annoura T, Hardie DB, Borchers CH, Jardim A. Characterization and Diagnostic Application of *Trypanosoma cruzi* Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens Shed in Extracellular Vesicles Released from Infected Mammalian Cells. *J Clin Microbiol.* 55(3):744-758 (2017).
- Fougère A, Jackson AP, Bechti DP, Braks JA, Annoura T, Fonager J, Spaccapelo R, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, Klop O, van der Laan AM, Tanke HJ, Kocken CH, Pasini EM, Khan SM, Böhme U, van Ooij C, Otto TD, Janse CJ, Franke-Fayard BM. Variant exported blood-stage proteins encoded by Plasmodium multigene families are expressed in liver stages where they are exported into the parasitophorous vacuole. *PLoS Pathog.* 12(11):e1005917. (2016).
- Rijpma SR, van der Velden M, Annoura T, Matz JM, Kenthirapalan S, Kooij TW, Matuschewski K, van Gemert GJ, van de Vegte-Bolmer M, Siebelink-Stoter R, Graumans W, Ramesar J, Klop O, Russel FG, Sauerwein RW, Janse CJ, Franke-Fayard BM, Koenderink JB. Vital and dispensable roles of Plasmodium multidrug resistance transporters during blood- and mosquito-stage development. *Mol Microbiol.* 101(1):78-91. (2016).
2. 原著論文、総説(和文)
- 牧内貴志、野崎智義 (2016) ミトコンドリアの多様な進化—赤痢アメーバマイトソームから見えるミトコンドリアのタンパク質輸送と代謝の進化 真核細胞の共生由来オルガネラ研究最前線 広がり続ける多様性と機能 70(2), 93-98, 2016、生物の科学 遺伝 エヌ・ティー・エス
- 野崎智義 (2017) 原虫の特殊代謝経路を標的とした国際共同創薬研究、化学療法の領域 33, 438-445, 2017, 医薬ジャーナル社
- 松原立真、永宗喜三郎 「アピコンプレクサ生物におけるカルシウム・シグナリングと植物ホルモン」化学療法の領域 2016, 32: 117-126
- 松原立真、永宗喜三郎 「アピコンプレクサ類のもつ植物様オルガネラと植物ホルモン—オルガネラ進化学から考える感染症対策」遺伝 2016, 70:99-104
- 永宗喜三郎 「お肉とネコの寄生虫、トキソプラズマってナニモノ？」衛生の友 2016, 59: 2
- 永宗喜三郎 「トキソプラズマ感染症診断法」小児内科 2017,

49 印刷中

倉井華子, 森嶋康之, 山崎 浩, 杉山 広, 石井隆弘. 大腸内視鏡検査で発見された *Hymenolepis* 属条虫について. *Clinical Parasitology* 27, 23-25, 2016.

石井 明, 山崎 浩. 無鉤条虫症の 2 例. *Clinical Parasitology* 27, 29-31, 2016.

伊東直哉, 倉井華子, 山崎 浩, 森嶋康之, 杉山 広. 肺がん術後再発と鑑別を要したウエステルマン肺吸虫症の一例. *Clinical Parasitology* 27, 36-39, 2016.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 御供田睦代, 森嶋 康之, 山崎 浩. ジビエ(野生鳥獣肉)を介した肺吸虫症の感染リスク. *Clinical Parasitology* 27, 40-42, 2016.

森嶋康之, 山崎 浩, 大前比呂思, 杉山 広. わが国における単包虫症: 現状ならびに市販血清診断キットの診断精度. *Clinical Parasitology* 27, 69-71, 2016.

近真理奈, 山本徳栄, 青木敦子, 大山龍也, 大山通夫, 森嶋康之. 埼玉県の野生化アライグマにおける腸管寄生虫類の保有状況. *Clinical Parasitology* 27, 52-53.

杉山 広. 過去に学ぶ食中毒の誤認. *食衛誌* 57, J83-J85, 2016

杉山 広. 食中毒としての食品媒介寄生虫症: 現状と検査の課題. *食微誌* 33, 134-137, 2016

杉山 広. 我が国における寄生虫性食中毒の発生状況と原因食品の検査法. *クリーンテクノロジー* 2016(8), 24-27, 2016

杉山 広. アニサキスによる食中毒. 人と動物の共通感染症研究会ニュースレター 15, 9-14, 2016

山崎 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 馳 亮太, 鈴木啓之, 矢野勇大. 国内感染が再び確認されたアジア条虫症-千葉県. *病原微生物検出情報* 37, 206, 2016.

3. 書籍(英文)

4. 書籍(和文)

泉山信司, 遠藤卓郎, 水道における人への危害が問題となる病原微生物とその対策, *水環境学会誌*, 2016, 39(2), 54-58

杉山 広. 有害微生物の基礎(原虫・寄生虫)および微生物の活性・不活性(原虫・寄生虫). 有害微生物の制御と管理ー現場対応への実践的な取り組みー. pp.26-29 および pp.90-91, テクノシステム, 東京. 2016 年 11 月.

5. 行政

厚生労働省事務連絡「死亡した妊婦の検体からオウム病病原体を同定した事例について (情報提供)」2017 年 3 月

II. 学会発表

1. 国際学会

Arif Nurkanto, Ghulam Jeelani, and Tomoyoshi Nozaki. Coenzyme A biosynthetic pathway in enteric protozoan parasites *Entamoeba histolytica*: A potential target for drug development. The 7th EMBO meeting 2016, Mannheim, Germany, September 10-13, 2016.

Jeelani G, Mori M, Shiomi K, Nozaki T. Functional analysis of cysteine biosynthetic pathway in enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 7th EMBO meeting 2016, Sept 10-13, 2016, Mannheim, Germany.

Herbert H. Santos, Ken-ichiro Imai, and Tomoyoshi Nozaki. Discovery of lineage-specific mitochondrial membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis. Kyoto, Japan, Sept 10-14, 2016

Herbert H. Santos, Ken-ichiro Imai, and Tomoyoshi Nozaki. Discovery of lineage-specific mitochondrial membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. 2016 (27th) Annual Molecular Parasitology Meeting. Woods Hole, Massachusetts, USA,

Sept 18-22, 2016

Jeelani G, Nozaki T. Metabolomic analysis of *Entamoeba*. AMOEBAC Review meeting, Nov 1-2, 2016. Indian National Science Academy, New Delhi, India.

Saito-Nakano Y, Nozaki T. Isolation of new drug target on *Entamoeba histolytica*: Ursolic Acid and Miltefosine. NICED-NIID Joint meeting, 12th, Dec, 2016. Kolkata, India.

Herbert H. Santos, Ken-ichiro Imai, and Tomoyoshi Nozaki. Discovery of lineage-specific mitochondrial membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. Seoul, South Korea. February 7-10, 2017

Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta-de Cadiz, Dar-der Ji, Makoto Kuroda and Tomoyoshi Nozaki. Identification of an AIG1 gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. Seoul, South Korea. February 7-10, 2017

Fukumoto, J., Sakura, T., Matsubara, R., Nagamune, K. "Elucidating the mechanism of host mitochondrial recruitment of *Toxoplasma gondii*." The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, September 2016, Kyoto

Kumiko Nakada-Tsukui, Ratna Wahyuni, Tomoyoshi Nozaki, Development of a new platform for evaluation of drug resistance in *Entamoeba histolytica* by confocal quantitative image cytometer. 13th Tiwan-Japan Symposium on Infectious Diseases, 2016.9.4-5, Taipei, Taiwan 口頭発表

Kumiko Nakada-Tsukui, Functional analysis of autophagy protein Atg8 in *Entamoeba histolytica*, Conference on

Amoebiasis, AMOEBAC meeting, 2016.11.1-2, Delhi, India
口頭発表

Kumiko Nakada-Tsukui, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Ratna Wahyuni, Yumiko Saito-Nakano, Tomoyoshi Nozaki Atg8 is involved in endosome/phagosome maturation in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* cell biology 2016 ascb annual meeting, 2016.12.3-7, San Francisco, CA, ポスター発表

Saito-Nakano Y, Nozaki T. Isolation of new drug target on *Entamoeba histolytica*: Ursolic Acid and Miltefosine. NICED-NIID Joint meeting, 12th, Dec, 2016. Kolkata, India.

Yamasaki H., Kumazawa H., Morishima Y., Sugiyama H. Molecular verification of the synonymy of *Diphyllobothrium yonagoense* with *Diphyllobothrium stemmacephalum*. International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Sep. 18-22, 2016. Brisbane, Australia.

Thanchomngang T., Tantrawatpan C., Intapan P.M., Sanpool O., Janwan P., Lulitanond V., Tourtip S., Yamasaki H., Maleewong W. Molecular identification of *Diphyllobothrium* species by pyrosequencing. International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Sep. 18-22, 2016. Brisbane, Australia.

2. 国内学会、シンポジウム、ワークショップ、市民公開講座など

川野哲郎, 中野由美子, Gil M. Penuliar, 野崎智義. 赤痢アメーバの病原因子システインプロテアーゼの輸送を制御する Rab11 の解析. 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2016 年 8 月 21 日-24 日. 帯広.

津久井久美子, 柴田久美子, 丸茂このみ, 渡辺菜月, 宮本絵梨, Ratna Wahyuni, 中野由美子, 野崎智義. 腸管寄生原虫赤痢アメーバの食胞成熟の分子機構. 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2016 年 8 月 21 日-24 日. 帯広.

津久井久美子, 渡辺菜月, 宮本絵梨, Ratna Wahyuni, 柴田久美子, 中野由美子, 富井健太郎, 野崎智義. 赤痢アメーバ原虫における Atg8 を介した食食胞成熟の分子機構. 第 39 回日本分子生物学会年会. 2016 年 11 月 30-12 月 2 日. 横浜.

森美穂子, 中野由美子, 柘植聡志, 大村智, 塩見和朗, 野崎智義. 糸状菌代謝産物 ovalicin は赤痢アメーバ症肝膿瘍モデルハムスターに対して治療効果を示す. 日本農芸化学会 2017 年大会. 2017 年 3 月 17 日-20 日. 京都.

野崎智義 嫌気環境下でのミトコンドリア進化: 硫酸活性化経路のミトコンドリアへの隔離はどうして起こったのか? 蛋白研セミナー “真核細胞のオルガネラ研究最前線” 2017 年 3 月 21 日~3 月 22 日, 大阪大学蛋白質研究所, 吹田市, 大阪府

永宗喜三郎, 山野安規徳, 福本隼平, 喜屋武向子, 正谷達膳, 松尾智英, 松井利博, 村上麻美, 高島康弘, 佐倉孝哉, 松原立真 “日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性” 第 85 回日本寄生虫学会大会 2016 年 3 月, 宮崎

松原立真, 佐倉孝哉, 福本隼平, 田原美智留, 山岸潤也, 永宗喜三郎 “トキソプラズマにおける IP₃ 受容体の探索” 第 85 回日本寄生虫学会大会 2016 年 3 月, 宮崎

福本隼平, 佐倉孝哉, 永宗喜三郎 “トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて” 第 85 回日本寄生虫学会大会 2016 年 3 月, 宮崎

菊地正, 清水少一, 安達英輔, 古賀道子, 永宗喜三郎, 鯉淵智彦 “トキソプラズマ集団感染例” 第 27 回日本臨床寄生虫学会 2016 年 6 月, 金沢

佐倉孝哉, 田原美智留, 別所知明, 八木田健司, 永宗喜三郎 “食中毒原因原虫 *Sarcocystis fayeri* の滑走運動および細胞内侵入性” 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ・第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会, 2016 年 8 月, 帯広

福本隼平, 山野安規徳, 竹内史比古, 松原立真, 喜屋武向子, 正谷達膳, 松尾智英, 松井利博, 村上麻美, 高島康弘, 永宗喜三郎 “日本におけるトキソプラズマのタイピングと病原性” 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ・第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会, 2016 年 8 月, 帯広

福本隼平, 山野安規徳, 佐倉孝哉, 松原立真, 永宗喜三郎 “日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性” 第 49 回日本原生生物学会大会, 2016 年 10 月, 岡山

津久井久美子 宮本絵梨, 渡辺菜月, 柴田久美子, 野崎智義, 赤痢アメーバ原虫における Atg8 を介した食食胞成熟の分子機構の解明 第 68 回日本細胞生物学会大会 2016 年 6 月 15 日(水)から 17 日(金)京都市 口頭発表

渡辺菜月, 津久井久美子 腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* において Atg8 が制御する食食分子機構の探索 第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議 2016 年 11 月 13 日(日)から 15 日(火)南魚沼郡湯沢町 ポスター発表

宮本絵梨, 津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバ Atg8 のエネルギー代謝における機能解析 第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議 2016 年 11 月 13 日(日)から 15 日(火)南魚沼郡湯沢町 ポスター発表

津久井久美子 赤痢アメーバ Atg8 の機能解析 第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議 2016 年 11 月 13 日(日)から 15 日(火)南魚沼郡湯沢町 口頭発表

渡辺菜月, 野崎智義, 津久井久美子 腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* における PI3P を介した食食胞成熟機構の解明 第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 11 月 30 日(水)から 12 月 1 日(金) 横浜市 ポスター発表

津久井久美子, 渡辺菜月, 宮本絵梨, Ratna Wahyuni, 柴田久美子, 中野由美子, 富井健太郎, 野崎智義, 赤

寄生動物部

痢アメーバ原虫における Atg8 を介した貪食胞成熟の分子機構 第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 11 月 30 日 (水) から 12 月 1 日 (金) 横浜市 口頭発表

八木田 健司、招待講演: 感染症スペシャリストが説きあかす 難治性病原体の秘密-アカントアメーバと感染症、角膜カンファレンス 2017 (第 41 回日本角膜学会総会/第 33 回日本角膜移植学会)、2017 年 2 月、福岡

八木田 健司、泉山 信司、宮崎 誠生、ジアルジアおよびクリプトスポリジウム同時検査用イムノクロマトキットの開発、第 85 回日本寄生虫学会大会、2016 年 3 月、宮崎

渡邊洋大、泉山信司、岩谷梓、齊藤巧介、成澤千秋、上村郁子、関山真樹、北村壽朗、相模川水系における遺伝子検出法を用いた原虫調査、日本水道協会水道研究発表会、2016 年 11 月、京都市

泉山信司、松下拓、秋葉道宏、片山浩之、水道の微生物学的な安全性向上に向けた取り組み、日本水道協会水道研究発表会、2016 年 11 月、京都市

川野哲郎、中野由美子、Gil M. Penuliar、野崎智義。赤痢アメーバの病原因子システインプロテアーゼの輸送を制御する Rab11 の解析。第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会。2016 年 8 月 21 日-24 日。帯広。

森美穂子、中野由美子、柘植聡志、大村智、塩見和朗、野崎智義。糸状菌代謝産物 ovalicin は赤痢アメーバ症肝膿瘍モデルハムスターに対して治療効果を示す。日本農芸化学会 2017 年大会。2017 年 3 月 17 日-20 日。京都。

倉井華子、森嶋康之、山崎 浩、杉山 広、石井隆弘。大腸内視鏡検査で発見された *Hymenolepis* 属条虫について。第 27 回日本臨床寄生虫学会大会、金沢市。2016 年 6 月。

石井 明、山崎 浩。無鉤条虫症の 2 例。第 27 回日本臨床寄生虫学会大会、金沢市。2016 年 6 月。

伊東直哉、倉井華子、山崎 浩、森嶋康之、杉山 広。肺がん術後再発と鑑別を要したウエステルマン肺吸虫症の一例。第 27 回日本臨床寄生虫学会大会、金沢市。2016 年 6 月。

杉山 広、柴田勝優、川上 泰、御供田睦代、森嶋康之、山崎 浩。ジビエ(野生鳥獣肉)を介した肺吸虫症の感染リスク。第 27 回日本臨床寄生虫学会大会、金沢市。2016 年 6 月。

森嶋康之、山崎浩、大前比呂思、杉山広。わが国における単包虫症: 現状ならびに市販血清診断キットの診断精度。第 27 回日本臨床寄生虫学会大会、金沢、2016 年 6 月。

杉山 広。ジビエ(野生鳥獣肉)を介した肺吸虫症の感染リスク。平成 28 年度日本獣医臨床寄生虫学研究会、東京、2016 年 9 月

巖城 隆、勝俣悦子、武津かほり、依田貴之、森嶋康之、杉山 広。シロイルカの腎臓に寄生した線虫 *Crassicauda giliakiana*。第 76 回日本寄生虫学会東日本支部大会、東京、2016 年 10 月。

柴田勝優、川上 泰、森嶋康之、山崎 浩、杉山 広。鹿児島県の肺吸虫流行地におけるモクズガニのメタセルカリア寄生状況調査。第 76 回日本寄生虫学会東日本支部大会、東京、2016 年 10 月。

八木欣平、森嶋康之、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、野中成晃、奥祐三郎、吉川泰弘。多包条虫の流行検出のための指標動物としてのイヌの重要性について。第 62 回日本寄生虫学会北日本支部大会、青森、2016 年 10 月。

森嶋康之、八木欣平、登丸優子、山崎 浩、杉山 広、福本真一郎、吉川泰弘。愛知県における野犬のエキノコックス陽性例の再検出。第 76 回日本寄生虫学会東日本支部大会、東京、2016 年 10 月。

森嶋康之、杉山 広、山崎 浩、八木欣平。エキノコックス(多包条虫)流行地拡大におけるイヌの役割。第 10 回蠕虫

寄生動物部

研究会, 熱海, 2016年11月.

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 肝内型マラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明. 第24回分子寄生虫学ワークショップ/第14回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2016年8月21日-24日 帯広畜産大学・原虫病研究センター PKホール

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. シンポジストとして講演;肝内型マラリア原虫-宿主間“闘ぎ合い”分子メカニズムの解明 第57回日本熱帯医学会大会 2016年11月5日-6日 一橋大学 一橋講堂(東京都千代田区一ツ橋)

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. シンポジストとして講演;肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明. 第12回 霊長類医学科学フォーラム 2016年11月18日 文部科学省研究交流センター

荒木 球沙, 川合 覚, 野崎 智義, 案浦 健. 肝内型マラリア原虫における核増殖分子メカニズムの解明. 第39回日本分子生物学会年会 2016年11月30日-12月2日 パシフィコ横浜

案浦 健. シンポジストとして講演;マラリア原虫弱毒生ワクチン開発の現状と展望. バイオロジクスフォーラム 第14回 学術集会. 2017年1月12日 文京シビックホール

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 指定演題(シンポジウム・ワークショップ)の招待演者として講演;肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明. 第90回 日本細菌学会総会. 2017年3月19日-21日 仙台国際センター展示棟

高島康弘, 川原史也, 永宗喜三郎, 戸田なつき, 鬼頭克也 “実験感染ニワトリにおける抗トキソプラズマ抗体の産生状況” 第85回日本寄生虫学会大会 2016年3月、宮崎

喜屋武向子, 高良武俊, 岡野祥, 永宗喜三郎 “沖縄県におけるトキソプラズマ感染実態調査と感染要因の推定” 第85回日本寄生虫学会大会 2016年3月、宮崎

永宗喜三郎 “Plant hormones and apicomplexan parasites” 第89回日本細菌学会総会 2016年3月、大阪

猪原史成, 西村麻紀, 室井善景, Mahmoud Motamed, 横山直明, 永宗喜三郎, 西川義文 “トキソプラズマ感染によるマウスの恐怖記憶固定の傷害は脳皮質および扁桃核における機能異常が引き起こす” 第159回日本獣医学会学術集会、2016年9月、神奈川県藤沢市

永宗喜三郎 “アピコンプレクサと植物ホルモン” 第159回日本獣医学会学術集会、2016年9月、神奈川県藤沢市

永宗喜三郎 “微生物の基礎知識(その4)-原虫・寄生虫と注目される感染症-日本防菌防黴学会 製造環境における微生物汚染と対策に関する基礎講座、2016年12月、大阪