

6. 寄生動物部

部長 久枝 一

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、アカント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クサ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(エキノコックス症など)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、国内外の症例に係わる感染源の解析・調査を進めた。野生鳥獣肉(ジビエ)を汚染する病原体(寄生虫・細菌)の検査法の構築とその方法による汚染実態の調査に取り組んだ。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、マラリアに関しては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、実際に検査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。

研究費としては日本医療研究開発機構補助金、厚生労働科学研究費補助金、文部科学省科学研究費補助金、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、杉山広、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、協力研究員として下川周子、Olia Alex 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、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・実習生として鎌田陽菜、花館有希、丸茂このみ、渡辺菜月、Arif Nurkanto、福本準平、川野哲郎、鈴木桜織、Ratna Wahyuni、高津正子、Yulia Anita、山内祐人、多久(北園)和泉、Sanjib Kumar Sardar 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 からアイルラング大学から 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、伊藤薫平、岡村登喜子、梅木優子、臨時研究補助員として松崎素道、今田美穂子、中曽根英子、荒木球沙、賀川千里、荒井絢子、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. 原虫症診断法・検出法・不活性化法の開発

(1) 二種の抗クリプトスポリジウムモノクローナル抗体によるオーシスト二重染色—環境試料での交差染色について—

顕微鏡観察によるクリプトスポリジウム判別の精度向上と作業の簡易化を目指し、抗原認識部位(エピトープ)の異なる二種類の抗クリプトスポリジウム抗体を別々の蛍光色で標識し、二重染色による判別方法を用意した。この二重染色法の実用化へ向けて、下水、河川水などの環境試料に適用した場合の、夾雑物との交差反応性について検討した。クリプトスポリジウムとは異なる、非特異反応によって染色された蛍光粒子が一定数検出されたものの、検査を妨害するほどではなかった。

[橋本温(県立広島大学)、泉山信司]

(2) 水質データベースにおける浄水場出口濁度の年度推移、並びに西谷浄水場におけるクリプトスポリジウム対策を目的とした二段凝集と高感度粒子計の活用例

クリプトスポリジウムは塩素消毒に抵抗性があることから、水道を介して大規模な集団感染を引き起こすことが問題となる。汚染の恐れが高い施設では、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが可能なろ過設備(急速ろ過、緩速ろ過、膜ろ過等)を整備し、濁度を常に 0.1 度以下に維持することが求められている。しかし藻類や凝集不良といった、クリプトスポリジウム以外の原因で 0.1 度が達成できないことがあり、濁度の対策に対して否定的な意見が出されることがある。現在の濁度管理の状況について、水質データベースの浄水場出口濁度を追跡したところ、年々超過した浄水場の数は減少し、濁度管理に成功していることが判明した。濁度管理には、濁度計に加えて高感度な粒子計が利用可

能であり、今年度は西谷浄水場の粒子計の活用例を紹介する。粒子数が増加傾向になった際に、前 PAC 増量(通常の凝集沈殿処理におけるポリ塩化アルミニウムの増量)と後 PAC 注入(いわゆる高速ろ過前の二段凝集)を行い、ろ過水の粒子数を低減することができた。

[浅野峰子(横浜市水道局小雀浄水場)、泉山信司]

(3) 抗赤痢アメーバ抗体の開発

国内での赤痢アメーバ検査利用を目的に、抗原検出による免疫学的診断法開発を進めている。これまでに開発したポリクローナル抗体を酵素標識サンドイッチ ELISA 法でその性能を評価した結果、赤痢アメーバ PCR 陽性の糞便が抗原陽性を示したが、感度は低かった。モノクローナル抗体 3 クローンはハイブリドーマの抗体産生能が弱く培養上清中の抗体の評価となったが、赤痢アメーバライセートおよび糞便検体に対する反応性はクローン間で大差なく、ポリクローナル抗体よりも感度は良いと考えられた。なお詳細は不明だが、これらの抗体の特性から赤痢アメーバ細胞上にグロブリン様分子が存在する可能性があるという興味深い結果が得られた。

[八木田健司]

(4) 下痢症検体における赤痢アメーバ遺伝子検査

原虫性の下痢症が疑われた糞便検体に対する赤痢アメーバの遺伝子検査を行った。便検体総計 233 検体につき、QIAGEN Stool Fast Kit による DNA 抽出精製を行い、抽出 DNA を用いて 18S ribosomal RNA 遺伝子を標的とした赤痢アメーバ特異的 PCR を行った。調べた 233 検体中、赤痢アメーバ陽性と判断されたのは 5 検体で、赤痢アメーバ陽性率は 2.1%と算出された。抗原検査法および顕微鏡検査ではアメーバ陰性であった検体でも PCR 陽性反応が見られた。専ら栄養体検出に有用な抗原検査では検出の難しいシスト陽性例を、遺伝子検査では検出しており、その有用性が示された。

[八木田健司、下河原理江子]

2. 蠕虫症診断法・検出法の開発

(1) 実用化に向けた幼虫移行症複合検査キットの開発

本年度は希少感染症の一つである肝蛭症の迅速診断検査キットの開発を行った。その結果、試作品の評価では健康人血清と非特異的反応が認められたため、二次抗体の種類(モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、Protein A)とその

濃度について検討を行ったが、改善される迄には至らなかった。

[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)]

(2) 寄生蠕虫の遺伝子検査

寄生蠕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。さらに虫体が変性、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。今年度標的遺伝子として選択したのは、ミトコンドリア DNA の cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) や 12S ribosomal RNA、リボソーム DNA の ITS-1 や ITS-2 などで、塩基配列に関する基礎的な情報を蓄積した。研究材料は国内外から検査依頼目的で送付された臨床検体(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]

(3) わが国に分布する旋毛虫 *Trichinella* T9 の殺滅に有効な加熱条件の予備的検討

わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の高温耐性を予備的に検討した。食中毒の発生防止のために、厚労省が野生鳥獣肉の加熱に求める条件(75°Cで 1 分以上)と同等とされる 65°C・15 分で旋毛虫幼虫を処理したところ、マウスへの感染性が完全に消失した。

[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

に関する研究—

貯水槽水道の給水栓を対象として、塩素の残留状況が異なる給水栓から初流水を採取し、レジオネラ属による汚染状況と残留塩素濃度を調査した。レジオネラ属は遊離残留塩素が 0.1 mg/L を越えて残留している給水栓からはすべて不検出であった。以前の対象施設は汚染に苦慮していたが、自己水源の井戸水への切り替えに伴って追加の遊離塩素消毒が徹底され、汚染は大きく改善した。ウイルス指標として期待されるトウガラシ微斑ウイルスは、実際の浄水処理における挙動に関心が寄せられている。国内浄水場 A において、PCR 法にて通年で評価した凝集沈澱-砂ろ過処理によるトウガラシ微斑ウイルスの除去率は、1.3~2.0-Log であり、除去率の季節的な変動は小さかった。この結果は室内実験と同程度で再現性があり、各種水系感染症ウイルスも同程度除去されると推察された。浄水場におけるウイルス対策は後段の塩素処理に大きく依存していることが改めて確認された。クリプトスポリジウムは塩素消毒に抵抗性があることから、水道を介した散発的な感染が懸念される。1 個のクリプトスポリジウムで感染する確率は、かつて 1 個で 0.4%程度と計算されたが、感染しやすい種と株が存在し、今では 10%程度ないし 20%と桁違いに感染確率が大きいことが想定されている。10⁻⁶DALYs(障害調整生存年数)の目標維持には 3-Log 以上、微生物許容感染リスク 10⁻⁴/年の目標には 4-Log 以上の除去が必要と計算された。

[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)、片山浩之(東京大学大学院工学研究科)]

(2) 散発的なクリプトスポリジウム感染を防止するための対策

クリプトスポリジウムは塩素消毒に抵抗性があることから、水道を介した散発的な感染が懸念される。1 個のクリプトスポリジウムで感染する確率は、かつて 165 個で 50%(1 個で 0.4%程度)と計算されていた。ところが感染しやすい種と株が存在し、今では USEPA で 1 個が 10%程度の感染確率、WHO が 20%と計算の前提が更新され、桁違いに感染確率が大きいことが想定されている。すなわち、10⁻⁶ DALYs(障害調整生存年数)の目標維持には、従来の 2-Log 除去ではなく、3-Log 以上の徹底が必要であった。微生物許容感染リスク 10⁻⁴/年の目標には、4-Log 以上が必要であった。対策としては、2 ないし 3-Log の除去率が期待される凝集沈澱ろ過の急

速ろ過によるシングルバリアだけでなく、マルチプルバリアとして紫外線処理や膜処理に、当面の対策として二段凝集の導入、集水域の管理にモニタリングや排水処理の徹底など、水質の維持向上が将来の方向と考えられた。

[泉山信司]

(3) 赤痢アメーバ抗体検査とアメーバ赤痢発生動向

赤痢アメーバ抗体の保険適用検査ができなくなった 2018 年は、IDWR の集計でアメーバ赤痢(腸管と腸管外)総届出数は 838、アメーバ性肝膿瘍が主体と考えられる腸管外アメーバ症は届出数 39 であった。これはこの数年で最も届出が多かった 2016 年の数値と比較すると、総届出数は 27.3%の減少、また腸管外アメーバ症は 61.4%の大幅な減少であることが分かった。アメーバ性肝膿瘍では確定診断が抗体検査に限られるケースがあり、適切な治療が困難となる可能性がある。アメーバ赤痢は発生動向調査に基づく対策を行う感染症法 5 類に分類され、その発生動向が公衆衛生上の問題の発生を示している現状から、早急に適切な対策が施される必要がある。

[八木田健司]

(4) Balamuthia 感染による国内アメーバ性脳炎発生動向

近年、世界的に増加する傾向にある自由生活性アメーバ *Balamuthia mandrillalis* によるアメーバ性脳炎 GAE (Granulomatous Amoebic Encephalitis) 症例は、把握に努める米国では 2000 年以後の増加が著しく、*Naegleria fowleri* に代わる重要疾患となっている。国内では感染研での確定例数として 2000 年以前の総数 4 例に対し、2000-2004 (0)、2005-2009 (1)、2010-2014 (4)、2015-2018 (7) と 2010 年以後の増加が認められる。感染は稀だが診断が難しく、多くの場合致死的であることから、医療現場における情報の共有と早期診断の開発が重要である。

[八木田健司]

(5) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 北海道リスザル由来クローンの解析

北海道で飼育されていたリスザルの死亡例について病性鑑定を行ったところ、トキソプラズマ感染による肺水腫であることが判明した。この死亡個体の各種臓器からトキソプラズマの遺伝子検出を行ったところ、肺、肝臓、心臓、脾臓、腎臓、脳

において原虫遺伝子が検出された。このリスザル由来のトキソプラズマの分離に成功し、PCR-RFLP 法による遺伝子タイピングを行ったところ、非病原性のタイプ II に分類された。分離株のマウスに対する病原性を検証するため、タイプ II 標準株の PLK を比較対象として感染実験を行ったところ、本分離株はタイプ II 標準株よりも病原性が低下していることが明らかとなった。さらに我々は分離株の詳細なゲノム解析を行った。シーケンスデータをトキソプラズマタイプ II 標準株 (ME49) のゲノム配列へマッピングした。既報の情報を参考に病原性関連遺伝子に着目し、タイプ II 型標準株の DNA 配列と比較して *GRA24* 遺伝子のフレームシフト、*GRA7* 遺伝子の SNP の存在、多コピーを有する *ROP5* 遺伝子の中で新たな遺伝子の存在が確認された。これら遺伝子はトキソプラズマの病原性に関与していることが報告されており、リスザルでの感染感受性への関与が示唆された。

[西川義文(帯広畜産大学)、松崎素道、永宗喜三郎]

イ. 日本由来トキソプラズマのゲノムワイド SNPs 解析

トキソプラズマはクローン性が非常に高い生物であることが知られており、世界各地から 6 系統 16 ハプログループ (HG) のみが認識されている。ヨーロッパや北米大陸ではこのうち HG1、HG2、HG3 の 3 つが優占しているが、これらは農耕の開始により生じたヒト文明圏に適応した株が急速に分布を拡大したものと考えられており、特に染色体 1a が文明圏への適応と関係していると考えられている。しかしこうした研究は欧米由来の株を中心に進められており、アジアにおけるトキソプラズマの集団構造は中国を除くとほとんど分かっていない。これまで我々は分子疫学的観点から日本で分離されたトキソプラズマの病原性と遺伝子型の解析を進めてきたが、近隣の中国大陸で優占する HG13 は検出されておらず、その一方で日本独自の集団が複数存在していることが分かっている。そこで本年度は前年度までの解析分と合わせて日本分離株 8 株を含む 11 株の全ゲノム情報を取得し、ゲノムワイド SNP 解析による集団構造解析と分子時計による分岐年代推定を組み合わせて集団移動史の復元を試みた。その結果、日本分離株 8 株のうち 1 株は大航海時代以降に欧米から移入された株、3 株は農耕とともに渡来した集団、そして残り 4 株は非常に起源の古い在来集団と渡来集団の交雑によって生じたものだと考えられた。また渡来集団の染色体 1a は中国大陸の HG13 のものと同一起源であった。以上の結果は、ゲノ

ムワイド SNP 解析からトキソプラズマの移動史のみならず、ヒト文明圏の伝播についても推定できる可能性を示すものと考えられる。

[福本隼平、松崎素道、永宗喜三郎]

2. 蠕虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

(1) 我が国のアニサキス症に関連する疫学調査

ア. 福島県におけるカツオの生食を原因とするアニサキス食中毒:発生状況調査と原因種の同定

食中毒統計に記載された 2006 年のアニサキス食中毒の事件数はわずか 6 件であったが、2016 年には 123 件となり、その後は年間にほぼ倍増して、2017 年は 230 件、2018 年は 467 件に至った。その結果、アニサキス食中毒は、ノロウイルスやカンピロバクターによるものを抜いて、全食中毒の中で事件数が第 1 位となった。原因となる魚介類としては、患者の食歴からサバ(マサバとゴマサバ)が最も重要とされてきた。一方、2018 年にはカツオ生食による事件数が、サバを原因とするものを抜いた。特に福島県では、いわゆる初カツオの時期(4~6 月)を中心に、本食中毒事例が全県で多発した。本県で発生の食中毒事例から検出された虫体は、*Anisakis simplex sensu stricto* および *Anisakis pegreffii* と同定され、前種はカツオの腹側筋肉からも検出されたことから(後述)、本食中毒の重要な原因虫種になると考えられた。

[杉山広、森嶋康之、門馬直太(福島県)、菅野奈美、塚田敬子(福島衛研)]

イ. カツオからのアニサキス虫体の検出と種同定

カツオの生喫食を原因とするアニサキス症が多発したことから、カツオを東京の市場で購入し、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。検査対象は 16 尾で、2018 年 5 月に千葉県勝浦港に水揚げされた 6 尾と、10 月に宮城県気仙沼港に水揚げされた 10 尾を調べた。検査部位は内臓、腹側筋肉および背側筋肉とした(圧平法)。その結果、16 尾はすべてアニサキス幼虫陽性であった。また筋肉からは、3 尾の腹側筋肉から 5 隻が検出された(5 月は 2 尾から各 2 隻、10 月は 1 尾から 1 隻)。これらの虫体はわが国での主要人体寄生種である *Anisakis simplex sensu stricto* (As) であった。背側筋肉は虫体陰性であった。なお内臓からは 107 隻が検出され、77 隻が As、2 隻が *Anisakis typica* (この 2 種を形態学的に *Anisakis type I* と呼ぶ)、さらに 28 隻が *Anisakis physeteris* (形態学的

に *Anisakis type II* と呼び、深海魚から主に検出される虫種) であった。筋肉から検出されたアニサキス幼虫の数は多くないが、As と同定されたことから、腹側筋肉の生での喫食には注意が必要となる。

[杉山広、森嶋康之、山中祐二(日本食品検査)]

ウ. 魚介類販売店における生食用カツオの販売に先立つ処理方法の調査

東京、名古屋、大阪にあるデパートの海産魚販売店(合計 16 店舗)で生食用カツオの販売状況を調査した(2018 年 10~11 月)。6 店舗では生食用カツオの取扱いを中止し、8 店舗では冷凍後のカツオを生食用に販売するなど、アニサキス食中毒の発生予防対策が採用されていた。このような表示に反応して、冷凍品を選択して購入する消費者も見られた。ただし、前述のように、アニサキス幼虫が検出されたのは、カツオの腹側筋肉だけであった。生食用とする腹側筋肉は冷凍後に販売し、背側筋肉は従来通りにそのまま生食用すれば、アニサキス食中毒となる消費者のリスクは、サバなどと比較しても、極めて小さいと考えられた。

[杉山広、森嶋康之、賀川千里]

エ. アニサキス形態同定に関する手順書の作成

アニサキス食中毒の患者を診断した医師は、食品衛生法に則して保健所に届出する義務があり、保健所長が食中毒と断定した場合、事例は最終的に厚労省で取りまとめられて、食中毒統計に記載される。またアニサキス幼虫に汚染された食品の販売は、食品衛生法で禁止されており、違反した場合で特に食中毒が発生した場合は、営業停止などの行政処分の対象となる。したがって患者から摘出された虫体が、本当にアニサキスであるかとの同定は重要である。しかしながら、アニサキスであると同定するための具体的な検査法は、公定法の中に見当たらない。また画像を示しながら、形態同定の要点を簡便に記述した資料も乏しい。そこで、アニサキス食中毒と推定された患者や魚介類・食品残品から検出された虫体が、アニサキス幼虫であるとの同定に関して、行政の現場で使用できる簡便な「アニサキス形態同定に関する手順書」を作成した。

[杉山広、森嶋康之、門馬直太(福島県)、菅野奈美、塚田敬子(福島衛研)]

オ. シロザケの切身におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

日本近海のサケ類にアニサキス幼虫が寄生する事実は既に知られ、我々もシロザケおよびサクラマス(いずれも *Oncorhynchus* 属)を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を内臓と筋肉に分けて調べ、その成績を報告した。すなわち、いずれの魚種も *Anisakis simplex sensu stricto* (人体寄生の主要病因種)の寄生率は高いが、虫体の主要検出部位は魚種により異なり、シロザケでは筋肉(検出虫体の89%)、サクラマスでは内臓(同99%)であった。そこでシロザケに注目し、食用として流通する北海道産のシロザケ切身(計24枚)を対象に、各部位の筋肉におけるアニサキス幼虫の寄生状況を調べた。切身は脊椎骨の位置および肛門の位置を基準として、背側前半部、背側後半部、腹側前半部、腹側後半部の4部位に分別し(各12検体)、圧平法で検査した。その結果、各部位筋肉から検出された虫体数の合計は、順に5隻、0隻、91隻、4隻となった。特に魚体前半・腹側から極めて多数の虫体が検出されたので、シロザケは決して生食用としない様な啓発が必要である(1検体の平均重量40.1gから平均7.6隻)。

[杉山広、森嶋康之、賀川千里]

(2) 愛知県におけるエキノコックス流行調査

2014年3月、愛知県阿久比町において捕獲されたイヌ1頭からエキノコックス(多包条虫)虫卵が検出され、北海道以外の都府県からは第二例目となる「犬のエキノコックス症」として届出がなされた。当該犬は知多半島において野生化したイヌの1頭であり、これらの個体群におけるエキノコックスの浸淫状況を知る目的で2015年度より流行調査を実施している。2018年度は4市町から陽性例が検出され、知多半島における拡散が示唆された。

[森嶋康之、杉山広、山崎浩、八木欣平(北海道立衛生研究所)]

(3) 肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* に関する検討

ア. エクアドルに分布する肝吸虫 *Amphimerus* sp. のハムスターへの感染試験

後臈吸虫科 Opisthorchiidae の *Amphimerus* 属肝吸虫は、アメリカ大陸にも分布し、エクアドルでは、地域住民に感染を認める。そこで本虫のメタセルカリアを淡水魚から検出し、ゴ

ールデンハムスターに経口投与(130個/頭)して、投与後17~293日に安楽殺・剖検した。今回の検討では全頭に感染を認め、1頭当たり平均42隻(投与メタセルカリアの35.5%)の虫体が回収された。感染後17日と最も早くに剖検した個体からは、子宮内に虫卵を認めない未成熟虫も検出されたが、虫体後半部にも卵黄腺は分布し、本属の特徴は感染初期より発現した。病理組織標本の観察では、肝実質に虫道性病変を認めず、幼虫は胆道系を逆行して胆管・胆嚢に定着すると考えられた。さらに胆管上皮細胞の過形成と胆管周囲結合織の増殖と好酸球の浸潤等の所見が、剖検時期を問わずに認められた。しかし長期感染例でも、肝実質への線維化の波及は限定的で、典型的な肝硬変像の乏しさが本虫感染の特徴と考えられた。

[杉山広、森嶋康之、高木秀和(愛知医大)、板垣匡(岩手大)、マヌエル・カルボピーナ(アメリカ大・エクアドル)]

イ. 米国に分布する肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* の動物感染試験

アメリカ大陸における *Amphimerus* 属吸虫の比較生物学・分類学的検討を進めることを目的に、米国ウィスコンシン州のオークレア地区でブルーギルを採集し、*A. elongatus* のメタセルカリアを検出して、鳥類・ほ乳類への実験感染を実施した。その結果、ニワトリだけでなく、ハムスターおよびスナネズミからも、成虫が回収された。なお既報では、マウス、ラットおよびネコを使用した感染試験の報告があるが、いずれも感染は成立しなかったと報告されていた。

[杉山広、森嶋康之、窪田理恵、常盤俊大(日獣大)、高木秀和(愛知医大)、板垣匡(岩手大)、ティモシー・P・ヨシノ(ウィスコンシン大・米国)]

(4) 関東地方へのアジア条虫再侵入について

2016年以降に関東地方在住者に感染が発見されたアジア条虫の再侵入について検討を行った。ミトコンドリアDNAのcox1配列に基づきアジア条虫と同定された4例のうち、渡航歴および食歴により3例が土着感染と考えられた。次いで核DNAにおける対立遺伝子を解析したところ、*efl* ではホモ接合とヘテロ接合がそれぞれ1種、*elp* ではホモ接合が2種となり、それらを組み合わせると、上記3例の移入起源はいずれも異なり、関東地方への侵入は少なくとも3回発生していることが示唆された。

[森嶋康之、杉山広、山崎浩]

III. 分類・同定・臨床

1. AIDS 合併下痢症例からの微孢子虫 *Pleistophora* 属の検出

AIDS に合併した下痢症の患者の病原体検索を行ったところ、微孢子虫 *Microsporidia* に分類される *Pleistophora* 属が遺伝子レベルで検出された。病原体検索では主要な下痢関連の微孢子虫と反応する PMP1/2 プライマーを用いた PCR を行うが、本症例では通常サイズとは異なる産物を得られたことからそのシーケンスを解析した。微孢子虫胞子を検出するのに有用なカルコフロー染色を行ったが、胞子は検出されず感染量は微量と推定された。*Pleistophora* 属についてはヒト感染は稀であり、骨格筋の感染例が知られる。検出された微孢子虫が今回の下痢の起因となったかは不明である。

[八木田健司、渡辺恒二(国立国際医療研究センターACC)]

2. 微孢子虫 *Nozema* 属の角膜感染例

角膜移植後の infectious crystalline keratopathy (ICK) と考えられた角膜感染症例において、真菌感染が疑われたが確定に至らず、さらなる病因究明が行われた。角膜切片標本の蛍光染色と微分干渉顕微鏡所見からの形態的特徴、さらに電顕 TEM による内部構造解析で胞子内極管断面数が 10 前後という特長が判明し、*Nozema* の 1 種と同定されたが、全ゲノム増幅でも微孢子虫 DNA の増幅に成功せず種同定には至らなかった。本例は国内初例と考えられるが、真菌感染として誤診断される症例もあるものと推測される。

[八木田健司、江口洋(近畿大学眼科)]

3. 国内単離原虫株の薬剤感受性試験

(1) 赤痢アメーバの国内臨床単離株の動物モデルを用いた病原性評価

赤痢アメーバ症は感染者の 10% でしか発症せず、90% が腸アメーバ症や無症候性感染、10% が肝膿瘍を主とする腸管外アメーバ症となる。病態を規定する因子については、赤痢アメーバの病原性や感染宿主の免疫応答など、複雑な相互作用が影響しており、不明な点が多い。我々は国立国際医療研究センターとの共同研究から新たな無症候性・腸アメーバ症・肝膿瘍由来の国内臨床分離株の樹立に成功した。H30 年度に立ち上げた赤痢アメーバの無菌培養株 3 株(腸アメ

ーバ症 1 株、無症候性 2 株)を用いてシリアンハムスターへの肝膿瘍感染実験を行った。その結果、無症候性株で巨大な肝膿瘍形成を認め、ヒトと動物に対する病原性の違いを示唆する結果となった。

[柳川泰昭、渡辺恒二(国立国際医療研究センター)、津久井久美子、八木田健司、小林正規(慶応大学)、野崎智義(東京大学)、中野由美子]

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

赤痢アメーバゲノムは 1,500 弱のコンティグに分割された状態で比較しづらいことから、その整備を優先して行っている。PacBio で取得したゲノム配列に Chromatin conformation capture sequencing (Hi-C) の方法を適用し、約 40 染色体相当にまで配列をつなぐことができています。PBjelly を用いて配列のギャップを埋め、Hi-C の再接続を行い、Companion を用いてアノテーションを付与し、高品質の基準配列を得ることができた。ただし、自動的に解消されないギャップ部分は手作業での再接続を行い、マニュアル操作が入ることに難があった。赤痢アメーバゲノムはリピート配列や、繰り返しの多く、未解決で残る部分も生じた。完成したゲノムの検証と信頼性を維持する方法としては、別の株から別の方法で用意したゲノムアセンブリと、同じ染色体構造であることを確認する方法が考えられた。そこで Hi-C とは少し異なる Chicago の方法を用いて、国内臨床分離株のゲノムのアセンブリを試みた。Hi-C が 1Mb の比較的長距離な接続に向いているのに対して、今回着目した Chicago の方法は 100kb と短距離な関係性を証拠に接続するので、染色体 1 本が 1Mb に満たないことが多い赤痢アメーバにはより適すると期待できた。現時点で 307 コンティグが 204 まで繋がり、Hi-C での結果には及ばないまでも、アセンブリを向上できるだけの情報が Chicago の方法により得られた。コンティグの多くは既に数百 kb と大きく、小さな未接続のコンティグが残され、接続と追加の計算でアセンブリを向上させ、Hi-C のアセンブリと比較できる見通しを得た。

[泉山信司:川野哲郎、Dwi Peni Kartikasari、野崎智義(東京大学大学院医学系研究科)]

(2) 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. 実験室培養系に適応したトキソプラズマの原因遺伝子の

同定

我々が研究室で継代維持していたトキソプラズマ 2F 株において、増殖速度が親株よりも速くなっているクローンが存在していることを偶然見出した。そこでそのクローン (2Fevo1) について親株との遺伝的背景の違いを調べるため比較ゲノム解析を行った。その結果、2Fevo1 において遺伝子 x にミスセンス変異の存在が見出された。x にコードされているタンパク質の機能はわかっていないため、まずはこの遺伝子をノックアウトまたは過剰発現させ表現型に違いが現れるかを検討した。x をノックアウトまたは過剰発現させた株では宿主細胞への侵入率に変化があったほか、通常とは異なる異常な滑走運動が観察された。このことから x はトキソプラズマの運動を調節している Ca^{2+} シグナル系に関連する遺伝子である可能性が示唆された。

[高木綾湖、松崎素道、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

細胞内寄生原虫トキソプラズマにおいて、宿主のミトコンドリアや小胞体を寄生胞に引き寄せる現象 (リクルート) が知られている。しかし、その作用機序や生物学的意味は不明である。近年、ミトコンドリアに対する誘導因子 MAF1 が同定された (Pernas, L. et al., 2014)。しかしながら MAF1 ノックアウト (KO) 株においても若干のミトコンドリアのリクルートが観察されることから、我々は MAF1 以外にも別の誘導因子が存在すると考え、その因子の同定を試みる事とした。ロブトリータンパク質群 (ROPs) は原虫が宿主細胞に侵入する際に宿主細胞に分泌されるタンパク質群である。ミトコンドリアのリクルートが侵入の早い段階で起こる事、また ROPs の注入が過剰に起こる事でミトコンドリアのリクルートが亢進することから (Tahara, M. et al., 2016)、誘導因子候補として ROPs に注目した。比較定量可能な質量分析法により、トキソプラズマ感染細胞のミトコンドリアで存在量が増加した ROP を探索したところ、ROP39 が同定された。実際に ROP39 が宿主ミトコンドリア上に存在しているかを確かめるため、共焦点顕微鏡を用いて ROP39 の局在を観察した。結果、ROP39 は宿主ミトコンドリアと寄生胞膜上で共局在している事が確認できた。次に、ROP39 の KO 株を CRISPR/Cas9 系で作出し、KO 株における宿主ミトコンドリアのリクルート能の測定を行った。測定結果より、KO 株は親株と比べ、宿主ミトコンドリアのリクルート能が有意に低下している事が明らかになった。この事は、ROP39

は宿主ミトコンドリアの誘引因子の一つである事を示唆している。さらに ROP39 の KO 原虫の増殖能力やマウスに対する病原性などにどのような影響が現れるか現在検討中である。

[福本隼平 (筑波大学)、永宗喜三郎]

(3) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究
ア. トロゴサイトーシス誘導分子の同定

赤痢アメーバは生きた細胞をちぎり切りながら取り込み (トロゴサイトーシス)、死んだ細胞は丸呑みする (ファゴサイトーシス)。以前我々はこれらの過程が AGC キナーゼにより制御される事を報告した。そこでトロゴサイトーシスを誘導する分子の同定を試みた。若い赤血球と古い赤血球を分離し、赤痢アメーバと共培養したところ、若い赤血球の貪食胞は小さく、古い赤血球の貪食胞は大きく、トロゴサイトーシスとファゴサイトーシスに対応する形態と考えられた。赤血球表面糖鎖を消化すると若い赤血球が大きな貪食胞を形成したことから、赤血球表面糖鎖が貪食様式を制御する重要なシグナルを送ることが示唆された。

[鈴木源晟 (筑波大学)、野崎智義 (東京大学)、津久井久美子]

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-リン酸 (PI3P) エフェクターの解析

赤痢アメーバにおいて貪食胞の成熟過程に phosphatidyoinositol 3-phosphate (PI3P) の関与が示されている。我々は赤痢アメーバの PI3P エフェクターとして sorting nexin (SNX) 2 分子を同定した。SNX はモデル生物でレトロマー複合体の構成分子として知られるが、赤痢アメーバのレトロマー複合体と SNX1 が結合することが示された。さらに遺伝子発現抑制株の解析から、SNX2 が貪食を負に制御することが示された。SNX1, 2 と結合する分子を免疫沈降法と質量分析により同定したところ、レトロマーは検出されなかったが、それぞれ異なる結合分子の存在が示唆された。よって、赤痢アメーバの SNX は PI3P との結合能を持つが、独自の結合タンパク質と結合し、異なる機能を持つことが示唆された。

[渡辺菜月 (筑波大学)、野崎智義 (東京大学)、津久井久美子]

ウ. 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各遺伝子発現抑制株のマトリゲル侵入効率を評価した。ここから CPBF2 遺伝子発現抑制株で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が、amylase の遺伝子発現抑制はマトリゲル侵入活性に変化がなく、酵素輸送受容体としての機能とは別に侵入活性を制御することが考えられた。CPBF2 遺伝子発現抑制株の解析から、有意な運動能力の低下が観察された。よって CPBF2 に細胞運動制御分子としての機能があることが示唆された。

[丸茂このみ(筑波大学)、高島英造、坪井敬文(愛媛大学)、志波智生、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(東京大学)、津久井久美子]

エ. 赤痢アメーバオートファジーの解析

オートファジーは真核生物に広く保存する細胞内大規模分解機構の一つである。我々は赤痢アメーバの嚢子と栄養体のステージ変化においてオートファジーの関与を想定し、分子機構の解明を行っている。オートファジーのマーカー分子である Atg8 の脂質修飾に関与する Atg5/12-16 複合体を同定し、この複合体に *Entamoeba* ユニークな分子の存在を明らかにした。この分子の機能を知るため、遺伝子発現抑制株、結合分子の同定を行った。遺伝子発現抑制により Atg8 の脂質修飾が抑制され、conjugation 機能に重要な構成分子であることが示された。また、カルシウム結合分子との結合が検出され、未知のカルシウムシグナルによる機能制御を担う分子であることが示唆された。

[津久井久美子]

オ. 赤痢アメーバ病原性に関与する AIG1 ファミリータンパク質の解析

赤痢アメーバ症の症状は多様であり、感染者の90%は無症候、9%が腸アメーバ症、1%がアメーバ性肝膿瘍を主とする腸管外アメーバ症を呈する。しかしどのようなメカニズムで発症、臓器特異性が規定されるかは明らかでない。我々は比較ゲノム解析から、シグナル伝達に関与する GTPase とされる AIG1 ファミリータンパク質の一つが欠損するとアメーバ症の発症が抑えられることを見いだした。今回、地域や患者層が異なるバングラデシュの子どもの便検体でこの AIG 遺伝子の有無を検討したところ、無症候者の便では AIG 遺伝子

検出頻度は低い傾向が示された。よって AIG 遺伝子の病原性への関与は多くの原虫株に広く保存された表現型であると考えられた。

[津久井久美子:Chelsea Marie, William A. Petri, Jr. (バージニア大学)、Dar-der Ji(陽明大学)、川野哲郎、野崎智義(東京大学)]

カ. 赤痢アメーバの膜輸送:小胞体からの輸送における EhRab8A GTPase の解析

赤痢アメーバの表面タンパク質の輸送において、EhRab8A 依存的に輸送される表面タンパク質のうち、EhCdc50 を結合タンパク質として単離した。EhCdc50 は、細胞表面に提示される中央部分に、3カ所の糖鎖修飾を受けることが、糖転移酵素の阻害剤を用いて分かった。他種生物では Cdc50 はゲノムに3個から5個ホモログが存在しており、個々のホモログの局在は、トランスゴルジネットワーク、エンドソーム、細胞膜と局在が分かれている。赤痢アメーバの Cdc50 はゲノムに1つしか存在しないため、Cdc50 の細胞表面ドメインを認識する抗体を作製し、定常状態での EhCdc50 の局在を観察したところ EhCdc50 は細胞膜に局在することを示した。赤痢アメーバのゲノムには Cdc50 と結合すると考えられる P4-type ATPase が11個存在するため、細胞質に局在する ATPase は EhCdc50 依存的に、またエンドソーム/TGN に局在する ATPase は EhCdc50 非依存的に輸送されると考えられる。

[花館有希(筑波大学)、津久井久美子:野崎智義(東京大学)、中野由美子]

キ. 薬剤耐性赤痢アメーバの迅速単離法の開発

既存の薬剤耐性株に効果を示す新規薬剤開発の基盤的研究の一環として、DNA 複製酵素 δ の校正機能を欠損させた変異型 DNA 複製酵素 δ を発現させる形質転換赤痢アメーバを作製し、赤痢アメーバのミュテーター化を行った。赤痢アメーバのゲノムは $n=4$ に倍数化している可能性を考慮し、リード数の25%以上が同一の塩基置換を SNPs として定義し全ゲノムを解析したところ、変異型酵素 δ の誘導期間に比例して SNPs の増加を確認した。よって赤痢アメーバミュテーターゲノムに変異が蓄積することを検証した。さらにミルテフォシン薬剤耐性株は野生型よりも短期間で出現し、その単離に成功した。メタボローム解析により耐性機構を検討した結果、リーシュマニアで報告されている機構とは異なり、酸化ス

トレス応答が強く関与していることを明らかにした。本研究は世界で初めて腸管嫌気性原虫にミューテーター技術が確立できたことにより、同一薬剤に対する耐性機構による各原虫種の寄生特性の解明や、耐性の出現しにくい新薬開発などへの応用が可能となったことを示す。

[中野由美子:平井誠(順天堂大)、Ghulam Jeelani(東京大学)、泉山信司:川野哲郎(東京大学)、花館有希:Sandipan Ganguly(インド NICED)、野崎智義(東京大学)]

ク. 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ロニダゾール剤に依存しているため、薬剤耐性を持つ赤痢アメーバが出現する可能性がある。将来的な新薬の開発のために約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。ovalicinの赤痢アメーバ内での標的を明らかにするために、前述の赤痢アメーバミューテーターかたovalicin耐性株の薬剤選択を行った。

[森美穂子(北里大)、中野由美子:柘植聡志、大村智、塩見和朗(北里大)、野崎智義(東京大学)]

ケ. 天然物由来成分による抗原虫薬の開発

世界各地の寄生虫の流行地では、その地域社会で伝統的に使用されている薬草がある。赤痢アメーバとジアルジア原虫の流行地に位置するインド国立下痢症研究所との共同研究により、下痢症に有効な薬草 *Nyctanthes arborstris* から赤痢アメーバとジアルジア原虫の殺滅活性を示すウルソール酸を単離した。in vitroの感受性試験では、ウルソール酸はメロニダゾールと同等の薬効を示した。一方で、肝膿瘍モデルであるハムスターの肝膿瘍治療実験には、ウルソール酸は中程度の治療効果しか示さなかった。流行地では *Nyctanthes arborstris* が経口薬として使用されていることを考慮し、マウスの腸管モデルに経口投与を行う条件設定をおこなった。

[中野由美子:Sanjib Kumar Sarder, Sandipan Ganguly(インド NICED)、梅木優子:川野哲郎、野崎智義(東京大学)、

下川周子(群馬大学)、久枝一]

コ. 天然物由来成分による抗原虫薬の開発・2

新規の抗原虫薬の同定を試みるために、海洋性シアノバクテリアが産生するリポペプチドライブラリーのスクリーニング 80 化合物を行った。赤痢アメーバ、熱帯熱マラリア、ジアルジア原虫に対してスクリーニングを行ったところ、熱帯熱マラリアにのみ殺滅作用を示すペプチドを得た。

[岩崎有紘(慶応大学)、中野由美子、梅木優子、中曽根英子:野崎智義(東京大学)、末永聖武(慶応大学)]

(4) マラリア原虫の分子細胞生物学・生化学・病態解明に係わる分子基盤研究

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

ヒト体内においてマラリア原虫が最初に寄生する肝細胞は、様々な細胞内の排除応答が可能であるため原虫には巧妙な回避機構などが必要であると考えられるが、その詳細は未だほとんど明らかとなっていない。肝内型マラリア原虫は感染成立後、宿主との間に寄生胞膜(PVM)を形成することで寄生を成立させることから、この原虫-宿主のインターフェイスであるPVMに着目し原虫-宿主間相互作用の解明を試みた。これまでに我々は、宿主オートファジーのマーカ分子LC3が肝内型マラリア原虫の感染初期に特異的に蓄積するが、原虫は分解されず生存することを見出した。そこで各種培養細胞を用いて、宿主細胞のオートファジー経路の活性化に必要な遺伝子欠損株の作製を行い、マラリア原虫を感染させ宿主LC3の蓄積を観察した。その結果、肝内型マラリア原虫への宿主LC3の蓄積は、宿主Atg5には依存的であるが、宿主FIP200には非依存的であることが明らかとなり、LC3単体で原虫PVMに蓄積する可能性が示唆された。また肝内型原虫への宿主リソソームのリクルートは、このLC3の蓄積には依存しないことも明らかとなった。今後、PVMに局在する原虫側分子の同定などを試みることで、詳細な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、荒井絢子:川上泰(麻布大学)、久枝一]

イ. 肝内型マラリア原虫の生存に重要な原虫特異的分子メカニズムの解明

宿主肝細胞内で増殖する肝内型マラリア原虫は、生存するために特異的な分子が必要であると考えられるが、その詳細はほとんど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に必須な機能が発揮される新規機能分子 NG2 を見出し、これまでの我々の解析から、NG2 はトランスポーターである可能性が強く示された。NG2 の機能解析を行うため、培養細胞を用いて各種のNG2 強制発現細胞の作製を行った。その結果、培養細胞により遺伝子導入効率が異なり、トランジェントな発現誘導効率に大きな差があることが認められた。今後、これらの条件の最適化を行い、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、梅木優子、長谷川早悠里、荒井絢子：今井賢一郎、富井健太郎(産総研)、久枝一]

ウ.マラリア原虫の核増殖分子メカニズムの解明

マラリア原虫が増殖をする際は、一細胞内に多数の核を有する「多核体形成」を行った後に、細胞分裂を行うユニークな増殖様式を行うことが知られている。特に肝内型マラリア原虫は、短時間で最大数万もの原虫に増殖することから、その制御機構は極めて興味深い。分子メカニズムは未だほとんど明らかとなっていない。一般の真核生物の増殖には様々な制御機構が報告されているが、ヒストンのエピジェネティックな制御はその中心的な役割を担うことが知られている。しかしマラリア原虫においては、メチル化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が、詳細はほとんど明らかとなっていない。これまでに我々が詳細な *in silico* 解析を実施したところ、新規推定ヒストンメチル化酵素遺伝子を見い出した。そこで、この新規推定ヒストンメチル酵素遺伝子の機能を明らかにするため、マラリア原虫において遺伝子破壊株の作製と発育ステージ特異的に強制発現を行う株の作製を試みた。その結果、全ての遺伝子改変株はいずれも野生型とは増殖速度などが明確に異なり、本新規酵素遺伝子は、マラリア原虫にとって重要な機能を持つことが示唆された。また、核増殖動態を明確にするためにマーカー分子の選定を行い、蛍光タンパク質との融合タンパク質として発現させることでライブモニターできる株の作製の準備を開始した。今後、新たなライブモニター株の作製や、各種変異株の解析を展開し、発育ステージ間での

差を明確にすることでマラリア原虫における核増殖の詳細な分子メカニズム解明を試みる。

[案浦健、荒木球沙、梅木優子、高津正子、荒井絢子：角田宗一郎(順天堂大)、久枝一]

エ. 休眠期マラリア原虫の解析にむけた新たな感染実験系の作出

マラリアは、原虫種により肝臓内に休眠体を形成することが知られており、根治しない限り再発を繰り返すため撲滅の大きな障害となっている。休眠期を生じる三日熱マラリア原虫(*P. vivax*)は、感染できる宿主動物が極めて限定的であるため感染モデル生物が限られており、新たな休眠期対策・研究開発を行う上で大きな障害となっている。そこで本研究では、*P. vivax* と様々な点で類似するサルマラリア原虫 *P. cynomolgi* (ゲノムの相同性が 90%以上、肝内型休眠体の形成や赤内期増殖サイクルなど生物学的性状も極めて類似)を用いて、霊長類を用いた新たなマラリア感染の *in vivo* と *in vitro* モデル作出を、獨医大と霊長類医科学研究センターと連携することで実施した。その結果、*P. cynomolgi* がハマダラカ体内で高効率に増殖できる実験系の作出に成功し、肝内期・休眠期の解析に必須であるスポロゾイトを大量に産生できる系の確立に成功し、肝内型休眠期に関する *in vivo* と *in vitro* の系を確立することができた。またこれらの材料を用いて、電子顕微鏡を用いた詳細な解析を実施し、原虫の核などのオルガネラの 3 次元構築にも成功した。今後、電子顕微鏡を用いた更なる解析を実施することで、新薬開発・ワクチン開発の発展に付与する分子基盤を明らかにする。

[案浦健、荒木球沙、荒井絢子：川合覚(独協医大)、保富康宏(霊長類医科学研究センター)、角田宗一郎(順天堂大)、久枝一]

オ. マラリア原虫を標的とした新規薬剤開発、新規ターゲット分子の探索、重症化回避機構の解明

新規の抗マラリア薬剤開発のため、原虫を標的とした新規薬剤スクリーニング、新規ターゲット分子の探索、新規の重症化回避機構の探索を実施した。新規の抗原虫薬の開発を目指して、理化学研究所、筑波大学などと共同開発を進めるとともに、原虫の薬剤耐性メカニズムの解明を展開した。新たな化合物を用いた抗マラリア原虫活性を測定したところ、既存の抗マラリア薬と同等の低濃度で殺原虫を示す化合物を

新しく4種得ることができた。また異なる特定の化合物を用いた実験から、マラリア重症化を軽減できる可能性が示され、病態分子メカニズムの解明につながる知見が得られる可能性が示唆された。今後、詳細な解析を行うことで、新規薬剤としての発展の可能性を検討する。

[案浦健、中野由美子、梅木優子、荒木球沙、多久(北園)和泉、Yulia Anita、長谷川早悠里、荒井絢子:菊地正樹、梅原崇史(理研)、長崎幸夫(筑波大)、久枝一]

カ. 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 を同定した。中でも、Arf1, Rab1b は Rab5b と共局在することが観察された。ERD2 と Bip 抗体を用いた間接蛍光抗体観察と超解像顕微鏡を用いた解析により、Arf1 は Bip 寄りに、Rab1b は ERD2 寄りに局在することを明らかにした。また Arf1^{Q71L} 変異体の発現により、Rab5b の積み荷と報告されている AK2 の寄生胞膜への輸送が阻害された。よって Rab5b と Arf1 が共に小胞体から寄生胞膜への COPII を介さない unconventional secretion に関わっていることを示した。

[多久(北園)和泉、平井智浩(筑波大学)、新澤直樹、岩永史朗(医科歯科大学)、牧内貴志(東海大学)、永宗喜三郎:野崎智義(筑波大学)、中野由美子]

2. 蠕虫症の病原機構・生物学にかかわる研究

(1) 蠕虫ゲノム情報の整備に関する研究

わが国で最も感染事例が多い *Dibothriocephalus* 属の代表種である日本海裂頭条虫 (*Dibothriocephalus nihonkaiensis*) について全ゲノム解析を行った。Illumina HiSeq で読み取りを行い、246M のペアエンドリード、37Gb 他を取得した。いくつかのアセンブラを比較した結果、Spades を用い、

k-mer=127 の条件で計算したアセンブリが最も信頼性があると考えられた。コンティグ数は 67,743、最長コンティグは 155.7Kb、ゲノムサイズは 641Mb に達した。日本海裂頭条虫のゲノムサイズは近縁の広節裂頭条虫 (*Dibothriocephalus latus*, 531Mb) やイルカ裂頭条虫 (*Diphyllobothrium stemmacephalum*, 562Mb) と同程度であり妥当と考えられた。[山崎浩、泉山信司:野崎智義(東京大学大学院医学系研究科)]

V. 免疫学的検討

1. 赤痢アメーバの抗酸化作用における腸内細菌の影響の検討

赤痢アメーバは大腸内で増殖し、病原性を発揮する。大腸内の酸化ストレスはアメーバの発育を誘導するために必要である一方で、過剰の酸化ストレスはアメーバ自体にダメージを与えるため、アメーバにおける酸化ストレス応答は寄生適応だけでなく、赤痢アメーバ感染における宿主宿主寄生体相互作用においても非常に重要である。アメーバも多くの抗酸化システムを有しているが、寄生部位である大腸に豊富に存在する腸内細菌の酸化ストレス応答に与える影響はよく分かっていない。トルコの共同研究者、Ankri 博士らはこれまでに、赤痢アメーバと腸管病原性大腸菌 O55 を共培養すると、アメーバが過酸化水素に対してより抵抗性になること、言い換えるとアメーバの抗酸化作用が増強することを見出していた。今回、O55 の責任分子がリンゴ酸脱水素酵素であることを突き止め、その産物であるオキサロ酢酸がアメーバにおける抗酸化作用を高めることを明らかにした。これらの知見が生体内でも見られるかを、培養した赤痢アメーバを CBA/J マウスの虫垂内に接種するマウスアメーバ症モデルで確認した。オキサロ酢酸存在下で培養したアメーバは、通常の培養条件で得られたアメーバよりも、マウスでの生着率、生存数が有意に高いことが明らかとなった。これらの事実は、腸内細菌が赤痢アメーバの病原性に影響を与えること、特に、赤痢アメーバ流行地で問題となっている、腸管病原性大腸菌による食中毒がアメーバ性赤痢の増悪因子となりうることを示唆するものである。

[Serge Ankri(テクニオン、トルコ)、下川周子(群馬大学)、中野由美子、久枝一]

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39回衛生微生物技術協議会研究会において寄生虫に関するレファレンスセンター関連会議を行った。[永宗喜三郎、八木田健司、森嶋康之、杉山広]

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:川野哲朗、Dwi Peni Kartika、野崎智義(東京大学)、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 8 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. 蠕虫類のリファレンス活動

平成 30 年度には計 61 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 40 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 8 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)、条虫 4 種(有鉤囊虫、マンソン弧虫、多包虫、単包虫)、吸虫 6 種(ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫)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、旋毛虫症については、それぞれウェスタンブロット法による市販キットを用いた。トキソカラ症、肺吸虫症、およびマンソン弧虫症に関しては、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 27 検体のうち、旋毛虫症で 4 検体、有鉤囊虫症で 3 検体、エキノコックス

症で 2 検体、トキソカラ症で 1 検体に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 34 件あり、遺伝子の塩基配列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 30 例が寄生虫で、条虫:*Dibothriocephalus nihonkaiensis*(14)、*Taenia saginata*(6)、*Echinococcus multilocularis*(1)、*Hymenolepis nana*(1)、*Spirometra decipiens*(1)、*Taenia serialis*(1)、線虫:*Anisakis simplex sensu stricto*(2)、*Ascaris lumbricoides*(2)、*Trichinella* T9(1)、吸虫:*Paragonimus miyazakii*(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 30 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(5 月)。

[八木田健司、泉山信司]

「平成 30 年度食肉衛生検査研修」、講義内容「寄生虫を原因とする疾病の検査」、国立保健医療科学院、平成 30 年 6 月 [杉山広]

「平成 30 年度食品衛生危機管理研修」、講義内容「寄生虫による食中毒」、国立保健医療科学院、平成 30 年 10 月 [杉山広]

「平成 30 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 30 年 4 月 [中野由美子]

「平成 30 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 30 年 6 月 [案浦健、中野由美子]

国際協力関係業務

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説 (欧文)

Shaulov Y, Shimokawa C, Trebicz-Geffen M, Nagaraja S, Methling K, Lalk M, Weiss-Cerem L, Lamm AT, Hisaeda H, Ankri S. *Escherichia coli* mediated resistance of *Entamoeba histolytica* to oxidative stress is triggered by oxaloacetate. PLoS Pathog, 14: e1007295, 2018.

Yamazaki A, Izumiyama S, Yagita K, Kishida N, Kubosaki A, Hara-Kudo Y, Kamata Y, Terajima J. The Molecular Detection of Cryptosporidium and Giardia in Sika Deer (*Cervus Nippon Centralis*) in Japan. Food Safety. 6 (2): 88-95, 2018

Mori M, Tsuge S, Fukasawa W, Jeelani G, Nakada-Tsukui K, Nonaka K, Matsumoto A, Ōmura S, Nozaki T, Shiomi K. Discovery of Antiamebic Compounds That Inhibit Cysteine Synthase From the Enteric Parasitic Protist *Entamoeba histolytica* by Screening of Microbial Secondary Metabolites. Front Cell Infect Microbiol. 8:409. (2018)

Hanadate Y, Saito-Nakano Y, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Identification and Characterization of the *Entamoeba histolytica* Rab8a Binding Protein: A Cdc50 Homolog. Int J Mol Sci. 19(12). pii: E3831. (2018)

Shuralev, E.A., Shamaev, N.D., Mukminov, M.N., Nagamune K., Taniguchi, Y., Saito, T., Kitoh, K., Arleevskaya, M., Fedotova, A.Y., Abdulmanova, D.R., Aleksandrova, N.M., Efimova, M.A., Yarullin, A.I., Valeeva, A.R., Khaertynov, K.S., Takashima, Y. “*Toxoplasma gondii* seroprevalence in goats, cats and humans in Russia.” Parasitol. Int. 2018, 67 (2), 112-114

Takemae, H., Kobayashi, K., Sugi, T., Han, Y., Gong, H., Ishiwa, A., Recuenco, F. C., Murakoshi, F., Takano, R., Murata, Y., Nagamune, K., Horimoto, T., Akashi, H., Kato, K. “*Toxoplasma gondii* RON4 binds to heparan sulfate on the host cell surface.” Parasitol. Int. 2018, 67 (2), 123-130

Kamikawa, R., Yazaki, E., Tahara, M., Sakura, T., Matsuo, E., Nagamune, K., Hashimoto, T., Inagaki, Y. “Fates of Evolutionarily Distinct, Plastid- type Glyceraldehyde 3-phosphate Dehydrogenase Genes in Kareniacean Dinoflagellates.” J. Eukaryot. Microbiol. 2018 65(5), 669-678

Taniguchi, Y., Appiah-Kwarteng, C., Murakami, M, Fukumoto, J., Nagamune, K., Matsuo, T., Masatani, T., Kanuka, H., Hoshina, T., Kitoh, K., Takashima, Y. “Atypical virulence in a type III *Toxoplasma gondii* strain isolated in Japan.” Parasitol. Int. 2018 67 (5), 587-592

Nishimura M., Goyama T., Tomikawa S., Fereig R.M., El-Alfy E.N., Nagamune K., Kobayashi Y., Nishikawa Y. “Outbreak of toxoplasmosis in four squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in Japan.” Parasitol Int. 2019 68 (1), 79-86

Murakami M., Mori T., Takashima Y., Nagamune K., Fukumoto J., Kitoh K., Sakai H., Maruo K. “A case of pulmonary toxoplasmosis resembling multiple lung metastases of nasal lymphoma in a cat receiving chemotherapy.” J. Vet. Med. Sci. 2018 80 (12), 1881-1886

===

Tada K, Suzuki H, Sato Y, Morishima Y, Nagano I, Ishioka H & Gomi H. Outbreak of *Trichinella* T9 infections associated with consumption of bear meat, Japan. Emerg Infect Dis 24, 1532-1535, 2018.

Hara Y, Uruma T, Morishima Y, Hirai Y. Tingling throat syndrome' as asymptomatic anisakiasis following conveyor belt sushi consumption in Tokyo. Int J Infect Dis 82, 102-103, 2019.

Taniyama D, Inoue I, Kawano M, Arakawa C, Adachi T, Morishima Y, Yamasaki H, Sugiyama H. Possible reintroduction of *Taenia asiatica* in the Kanto region of Japan. Jpn J Infect Dis 72, 62-63, 2019.

Ma J, Hea JJ, Zhoua CY, Suna MM. Cevallius W, Sugiyama

- H, Zhu XQ, Calvopina M. Characterization of the mitochondrial genome sequences of the liver fluke *Amphimerus* sp. (Trematoda: Opisthorchiidae) from Ecuador and phylogenetic implications. *Acta Tropica* 90-96, 2019.
- Arai T, Yamada H, Edagawa T, Sugiyama H, Nakachi K. Easy detection and fast removal of gastric *Anisakis* during narrow-band imaging endoscopy with 1-menthol administration. *Case Rep. Gastroenterol.* 13, 305–309, 2019.
- Chen J. , Liu Q, Liu G, Zheng W, Hong S, Sugiyama H, Zhu XQ, Hany ME. Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact. *Infect. Dis. Poverty*, 7, 1-13, 2019.
- Murata Y, Ando K, Usui M, Sugiyama H, Hayashi A, Tanemura A, Kato H, Kuriyama N, Kishiwada M, Mizuno S, Sakurai H, Isaji S. A case of hepatic anisakiasis caused by *Pseudoterranova decipiens* mimicking metastatic liver cancer. *BMC Infect. Dis.* 18, 619, 2018.
- Calvopina M., Romero D, Diaz F, Cevallos W, Sugiyama H. A comparison of Kato-Katz technique to three other methods for diagnosis of *Amphimerus* spp. liver fluke infection and the prevalence of infection in Chachi Amerindians of Ecuador. *PLOS ONE*, 13 (10), e0203811, 2018.
- Calvopina M, Mabel G, Greta M, Cevallos W, Maritza C, Richar R, Sugiyama H. A symptomatic *Fasciola hepatica* infection presenting with hypereosinophilia. *Archiv. Clin. Microbiol.* 9, 1–4, 2018.
- Calvopina M, Romero D, Rendon M, Takagi H, Sugiyama H. *Hypobocera guayaquilensis* (Decapoda: Pseudothelphusidae): a new crab intermediate host of *Paragonimus mexicanus* in Manabí Province, Ecuador. *Kor. J. Parasitol.* 56,189–194, 2018.
- Takeda M, Sugiyama H. Some freshwater, semi-terrestrial and land crabs (Crustacea, Decapoda, Brachyura) from Ghana, West Africa. *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci, ser. A* 44, 41–50, 2018.
- Chinh VD, Masuda G, Hung VV, Takagi H, Kawai S, Annoura T, Maeno Y. Prevalence of human and non-human primate Plasmodium parasites in anopheline mosquitoes: a cross-sectional epidemiological study in Southern Vietnam. *Trop Med Health.* 23;47:9. (2019) doi: 10.1186/s41182-019-0139-8. eCollection 2019.
- Armistead JS, Jennison C, O'Neill MT, Lopaticki S, Liehl P, Hanson KK, Annoura T, Rajasekaran P, Erickson SM, Tonkin CJ, Khan SM, Mota MM, Boddey JA. Plasmodium falciparum subtilisin-like ookinete protein SOPT plays an important and conserved role during ookinete infection of the Anopheles stephensi midgut. *Mol Microbiol.* 109(4):458-473 (2018). doi: 10.1111/mmi.13993.
- Dibyendu Raj, Punam Chowdhury, Rituparna Sarkar, Yumiko Saito-Nakano, Keinosuke Okamoto, Shanta Dutta, Tomoyoshi Nozaki, Sandipan Ganguly. Pyruvate Protects Giardia Trophozoites from Cysteine-Ascorbate Deprived Medium Induced Cytotoxicity. *Korean J Parasitol.* (2018) 56(1):1-9. DOI: 10.3347/kjp.2018.56.1.1
- Iwasaki A, Tadenuma T, Sumimoto S, Shiota I, Matsubara T, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Sato T, Suenaga K. Hoshinoamides A and B, Acyclic Lipopeptides from the Marine Cyanobacterium *Caldora penicillata*. *Journal of Natural Products.* (2018) 81:2545-2552. doi: 10.1021/acs.jnatprod.8b00643.
- Hanadate Y*, Saito-Nakano Y*, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Identification and characterization of the *Entamoeba histolytica* Rab8a binding protein: a Cdc50 homolog. *International Journal of Molecular Sciences, special issue Small GTPases.* (2018) Nov 30;19(12). pii: E3831. doi: 10.3390/ijms19123831. *contributed equally to the study.

関谷綾子、福島一彰、田中勝、矢嶋敬史郎、八木田健司、味澤篤、今村顕史 インド渡航後にサイクロスポーラによる腸炎。胆管症を認めたHIV感染者の1例、感染症誌 92: 371~375, 2018

大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹、古川一郎、前川純子、倉文明、泉山信司、黒木俊郎 医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態。感染症誌 92: 678~685, 2018

山崎浩、中村健、Pewpan M. Intapan、Wanchai Maleewong、森嶋康之、杉山広、小林薫、高山勝好、小林行治 イムノクロマト法を用いた幼虫移行症複合型検査キットの適用例。Clin Parasitol 29, 92-94, 2018.

石川敬、生野博、山崎浩、小林宏尚 当施設で経験した日本海裂頭条虫の複数感染の1例。Clin Parasitol 29, 63-65.

森嶋康之、杉山広、山崎浩 関東地方へのアジア条虫再侵入について。Clin Parasitol 29, 56-58, 2018.

森嶋康之 エキノコックス症。日獣会誌 71, 333-337, 2018.

森嶋康之、杉山広、山崎浩、近真理奈、長谷川晶子、土井陸雄 家畜を介した非流行地へのエキノコックスの拡散。病原微生物検出情報 40, 40-42, 2019.

加山英、柴田勝優、立野祐子、山田茂夫、杉山広 腹腔内に犬糸状虫の異所寄生が認められた犬の1例。動物臨床医学 27, 1-4, 2018.

坂西梓里、佐々木健、杉山広、川上泰 千葉県勝浦市小羽戸地区のサワガニにおけるウェステルマン肺吸虫メタセルカリアの感染状況。Med. Entomol. Zool. 69,1-5, 2018.

杉山広 ジビエの危険性。日医師会誌 147, 1215-1219, 2018.

壁谷英則、黒田恵美、佐藤真伍、杉山広、朝倉宏 わが国の野生鳥獣処理施設で処理された鹿肉の衛生評価。日獣会

誌 71, 587-592, 2018.

3. 書籍(英文)

Baird, F.J., Morishima, Y., Sugiyama H., *Anisakis*, Allergy and the Globalization of Food, In: Food Allergy: Molecular and Clinical Practice, Lopata, A. L. (ed)., 155-175, 2017, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Yamasaki H. Chapter 61. *Diohyllbothrium*, *Adenocephalus*, and *Diplogonoporus*. Handbook of Foodborne Diseases (ed., D. Liu), CRC Press, 2018.

4. 書籍(和文)

永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲 編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018

永宗喜三郎、矢吹彬憲 “アメーバとは何か”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲 編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018: 1-24

永宗喜三郎 “食物に潜み「ヒトに害をなす」原生生物”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲 編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018:26-34

永宗喜三郎 “女性必読！ トキソプラズマ感染と妊娠へのリスク”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲 編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018:44-45

永宗喜三郎 “原生生物「見どころ」ガイド”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲 編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018: 133-134

5. 行政

「食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会(第78回)」、講義内容「アニサキス食中毒」、食品安全委員会中会議室、平成31年3月 [杉山広]

II. 学会発表

1. 国際学会

Hajime Hisaeda. Helminth-induced suppression of autoimmunity through activation of regulatory T cells. 14th

International Congress of Parasitology, Daegu, Korea Aug. 2018

Hajime Hisaeda. Host-parasite relationship in malaria – Parasites' evasion and hosts' protection. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea Aug. 2018

Kumiko Nakada-Tsukui, Shinji Izumiyama, Chelsea Marie, William A. Petri, Yasuaki Yanagawa, Koji Watanabe, Seiki Kobayashi, and Tomoyoshi Nozaki. Genomic and bioinformatic analyses of virulence-associated genome modifications in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, Hanoi, Vietnam, Feb.-Mar. 2019

Kumiko Nakada-Tsukui, Kumiko Shibata, Eri Miyamoto, Tetsuo Hashimoto, Tomoyoshi Nozaki. Identification and characterization of Atg5-12/16 complex in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. ASCB|EMBO 2018 meeting, San Diego, CA, USA, Dec. 2018,

Kumiko Nakada-Tsukui, Shinji Izumiyama, Kentaro Tomii, Tomoyoshi Nozaki. Genome analysis of the AIG1 family protein genes in *Entamoeba histolytica*. The 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, Taipei, Taiwan, Sep. 2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui. Functional analysis of phosphatidylinositol 3-phosphate effector, sorting nexins in *E. histolytica*. 14th International Congress of Parasitology ICOPA, Daegu, Korea Aug. 2018

Kumiko Nakada-Tsukui, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Ratna Whayuni, Yumiko Saito-Nakano, Tetsuo Hashimoto, and Tomoyoshi Nozaki. Uniqueness and conservation of the Atg8 conjugation system in *Entamoeba histolytica*. 14th International Congress of Parasitology ICOPA, Daegu, Korea Aug. 2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui. Functional analysis of PI3P effector candidate SNX in *Entamoeba histolytica*. XIX International Seminar on Amebiasis, Puebla, Mexico, Apr. 2018

Matsuzaki, M., Fukumoto, J., Kyan, H., Masatani, T., Matsuo, T., Murakami, M., Takashima, Y., Nishikawa, Y., Nagamune, K. “The seventh “clade” of *Toxoplasma gondii* excavated by genome-wide SNP analysis of Japanese isolates” 14th International Congress of Parasitology, Daegu, South Korea, August 2018

Fukumoto, J., Sakura, T., Matsubara, R., Tahara, M., Matsuzaki, M., Nagamune, K. “Identification and characterization of a novel mitochondrial recruitment factor of *Toxoplasma gondii*” EMBO workshop “Molecular advances and parasite strategies in host infection” Les Embiez Island, France, September 2018

Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Okamoto M. *Taenia asiatica* infection in Japan: Current status and the origin of the etiologic agent. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea, Aug., 2018.

Yamasaki H. Diphyllbothriasis: Systematics, molecular diagnosis, and epidemiology. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea, Aug, 2018. Keynote Speaker.

Sugiyama H, Morishima Y, Yamasaki H. Recent trends in the incidence of foodborne helminthiases in Japan. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea, Aug., 2018.

Takeshi Annoura, Tamasa Araki, Satoru Kawai, Hiroataka Kobayashi, Michiyo Kataoka, Soichiro Kakuta, Shahid M. Khan, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda. Insights into the molecular machinery involved in regulating Plasmodium liver-stage proliferation. ICOPA 2018 14th International congress of parasitology, Aug 19-24, 2018, DAEGU, KOREA.

Invited oral presentation

Tamasa Araki, Satoru Kawai, Masaki Kikuchi, Takashi Umehara, Kisaburo Nagamune, Shahid M. Khan, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda, Takeshi Annoura. Elucidation of the biological function of SET-TA in Plasmodium liver-stage development. ICOPA 2018 14th International congress of parasitology, Aug 19-24, 2018, DAEGU, KOREA. Poster presentation

Takeshi Annoura, Tamasa Araki, Satoru Kawai, Hirota Kobayashi, Michiyo Kataoka, Soichiro Kakuta, Shahid M. Khan, Yasuhiro Yasutomi, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda. Insights into the molecular machinery involved in regulating liver-stage and mosquito-stage proliferation in Plasmodium. NPRCT-CU official opening ceremony and symposium, Nov 4-6, 2018, Saraburi, Bangkok, Thailand, invited Plenary lecture

Takeshi Annoura, Tamasa Araki, Satoru Kawai, Hirota Kobayashi, Michiyo Kataoka, Soichiro Kakuta, Shahid M. Khan, Yasuhiro Yasutomi, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda. Insights into the molecular machinery for regulating proliferation in Plasmodium. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference On Emerging Infectious Diseases In The Pacific Rim, Feb 28- Mar 1, 2019, Hanoi, Vietnam, oral presentation

Mihoko Mori, Yumiko Saito-Nakano, Satoshi Tsuge, Satoshi Omura, Kazuro Shiomi, Tomoyoshi Nozaki. Ovalicin, a fungal metabolite, is effective against a hamster amebic liver abscess model. Ameeba meeting International Seminar on Amebiasis. April 24 - 28. 2018. Puebla de los Angeles, Mexico.

Saito-Nakano Y. Drug resistant mechanisms in enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 12th Japan-China-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Dec 5th, 2018. Tokyo, Sunshine City.

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

久枝一 寄生虫による病気、寄生虫がいなくなったことによる病気。免疫ふしぎ未来 2018、2018年8月5日、東京

Hajime Hisaeda. Prevention of autoimmunity by regulatory T cells induced through interplay between helminth and microbiota. 第47回日本免疫学会、2018年12月10-12日、福岡、シンポジウム

Chikako Shimokawa, Tamotsu Kato, Tadashi Takeuchi, Hiroshi Ohno, Hajime Hisaeda. Suppression of type 1 diabetes in mice infected with an intestinal nematode. 第47回日本免疫学会、2018年12月10-12日、福岡

今井孝、石田英和、鈴江一友、谷口委代、岡田紘子、下川周子、久枝一 CD8T 細胞は細胞傷害性分子によりマクロファージと協調して赤内期マラリア感染防御に働く。第88回日本寄生虫学会大会、2019年3月15-16日、長崎

谷口委代、鈴江一友、今井孝、下川周子、Olia Alex, Ngo Thanhha, 久枝一 ネズミマラリア原虫感染における病態形成への腸内細菌の影響。第88回日本寄生虫学会大会。2019年3月15-16日、長崎

Chikako Shimokawa, Seiji Obi, Mioko Shibata, Alex Olia, Takashi Imai, Kazutomo Suzue, Hajime Hisaeda. Suppression of obesity by norepinephrine produced in parasitic infection. 第88回日本寄生虫学会大会、2019年3月15-16日、長崎

泉山信司、浅野峰子 クリプトスポリジウム対策を目的とした浄水場濁度管理への粒子計の活用。平成30年3月、東京

上野晃弘、八木田健司 感冒症状と SIADH で発症し頭部 MRI で両側の視床下部病変と髄液中に不明細胞を認めた37歳女性例。第23回日本神経感染症学会総会・学術大会、2018年10月、東京

寄生動物部

泉山信司 汚染される理由と事例。講演会・シンポジウム「医療機関の給湯・給水系に潜むレジオネラ感染リスク—実態と予防策—」、2018年10月、東京都

渡邊貴明、松田宗大、小倉徹、植園健一、松田尚子、枝川亜希子、泉山信司、藤井明 循環式浴槽においてモノクロミン消毒下で増殖する従属栄養細菌の同定ならびにその制御法について。日本防菌防黴学会、2018年11月、東京都

柳本恵太、堀内雅人、杉山寛治、田中慶郎、市村祐二、山上隆也、植松香星、久田美子、泉山信司 pH10のアルカリ性温泉におけるモノクロミンの消毒効果。日本防菌防黴学会、2018年11月、東京都

大河内由美子、泉山信司、前川純子 貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況。日本防菌防黴学会、2018年11月、東京都

浅野峰子、泉山信司 クリプトスポリジウム対策を目的とした浄水場濁度管理への粒子計の活用、日本水道協会水道研究発表会、2018年10月、福岡県

古川紗耶香、山本貢平、赤坂遼平、泉山信司 河川水からのジアルジア (*Giardia microti*) の検出。日本水道協会水道研究発表会、2018年10月、福岡県

泉山信司 水道における病原性微生物への対策。市民公開講座「安全な水道水をめざして—水質基準に関する研究の最前線」、2018年5月、東京都

泉山信司 クリプトスポリジウム検査と水道の病原生物対策の歴史的経緯。千葉県平成30年度水質検査精度管理研修会、2018年5月、千葉県

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるホスファチジルイノシトール3-リン酸エフェクター、*sorting nexin* は食食制御に関与する。第88回日本寄生虫学会大会、2019年3月、長崎市

津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける

Atg5-12/16 複合体の機能解析。第11回オートファジー研究会、2018年11月、掛川市

津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義 赤痢アメーバ原虫のホスファチジルイノシトールシグナルと食食胞成熟の分子機構。第91回日本生化学会大会、2018年9月、京都市

津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義 赤痢アメーバ原虫のホスファチジルイノシトールシグナルと食食の分子機構。第26回分子寄生虫学ワークショップ／第16回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018年9月、松山市

山崎浩、中村健、Pewpan M. Intapan、Wanchai Malecwong、森嶋康之、杉山広、小林薫、高山勝好、小林行治 イムノクロマト法を用いた幼虫移行症複合型検査キットの適用例。第29回日本臨床寄生虫学会大会、那覇市、2018年7月

石川敬、生野博、山崎浩、小林宏尚 当施設で経験した日本海裂頭条虫の複数感染の1例。第29回日本臨床寄生虫学会、那覇市、2018年7月。

山崎浩、中村健、マリーウオン・ワンチャイ、インタパン-マリーウオン・ピューバン、森嶋康之、杉山広、小林薫、高山勝好、小林行治 Point-care-of-testing を目的とした幼虫移行症イムノクロマト検査キットの有用性。第88回日本寄生虫学会大会、長崎市、2019年3月

森嶋康之、杉山広、山崎浩 関東地方へのアジア条虫再侵入について。第29回日本臨床寄生虫学会大会、那覇市、2018年7月

森嶋康之 エキノコックス症。愛知県平成30年度感染症予防指導者セミナー、名古屋市、2018年8月

八木欣平、山田恭司、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之 エキノコックス症対策におけるイヌ対策の重要性について—農村地域における調査—。第64回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会、札幌市、2018

年 10 月

森嶋康之 愛知県における犬のエキノコックスについて。平成 30 年度動物由来感染症対策技術研修会、東京都、2018 年 10 月

森嶋康之、八木欣平 愛知県におけるエキノコックスについて。第 12 回蠕虫研究会、熱海市、2018 年 11 月

森嶋康之 最近の犬・猫の寄生虫病に関する話題:エキノコックス症。第 6 回九州・沖縄地区寄生虫診断講習会、宮崎市、2018 年 12 月

森嶋康之 動物由来寄生虫症に関する最近の話題～エキノコックス症を中心に～。三重県平成 30 年度狂犬病及び動物愛護管理研修会、津市、2019 年 3 月

森嶋康之、八木欣平、杉山広、山崎浩 2019.愛知県における多包条虫定着の可能性。第 88 回日本寄生虫学会大会、長崎市、2019 年 3 月

八木欣平、山田恭嗣、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之 2019.北海道の農村地域におけるイヌの多包条虫流行状況。第 88 回日本寄生虫学会大会、長崎市、2019 年 3 月

杉山広、森嶋康之、川上泰、窪田理恵、常盤俊大、高木秀和、板垣匡、M カルボピーニャ エクアドルで検出された肝吸虫 *Amphimerus* sp.のハムスターへの感染試験。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば市、2018 年 9 月

内海優子、藤本翼、佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、奈良崎和孝、鶴田忠、横山栄二、朝倉宏、杉山広、高井伸二、壁谷英則 わが国の鹿および猪における志賀毒素産生大腸菌の保菌状況と O157 分離株の全ゲノム解析。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば市、2018 年 9 月

田中温奈、池田碧、佐藤真伍、丸山総一、朝倉宏、杉山広、高井伸二、壁谷英則 わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価。第 161 回 日本獣医学会学術集

会、つくば市、2018 年 9 月

杉山広、森嶋康之、窪田理恵、常盤俊大、高木秀和、板垣匡、ティモシー・P・ヨシノ 米国に分布する肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* の動物感染試験。第 78 回日本寄生虫学会東日本支部大会、下野市、2018 年 10 月

森田聡志、内海優子、佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、藤本翼、奈良崎和孝、鶴田忠、横山栄二、朝倉宏、杉山広、高井伸二、壁谷英則 わが国の鹿・猪における志賀毒素産生大腸菌 O157 の保菌状況と分離株の全ゲノム解析。平成 30 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、横浜市、2019 年 2 月

案浦健 マラリアとワクチン開発;最新情報と今後の展望。一般財団法人日本生物科学研究所第二研究会、2018 年 4 月 26 日、東京、(日本生物科学研究所にて招待を受け講演)

案浦健、荒木球沙、川合覚、小林宏尚、片岡紀代、角田宗一郎、Heussler T. Volker、野崎智義、久枝一 核制御を中心としたマラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明。第 26 回 分子寄生虫学ワークショップ/第 16 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018 年 9 月 19-22 日、愛媛

荒木球沙、川合覚、小林宏尚、永宗喜三郎、野崎智義、久枝一、案浦健 SET-TA による肝内型マラリア原虫の増殖制御メカニズムの解明。第 26 回 分子寄生虫学ワークショップ /第 16 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018 年 9 月 19-22 日、愛媛

梅木優子、荒木球沙、川合覚、菊地正樹、梅原崇史、中野由美子、久枝一、案浦健 ヒストン制御機構に着目した新規マラリア薬開発と分子メカニズムの解明。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

荒木球沙、川合覚、菊地正樹、梅原崇史、永宗喜三郎、野崎智義、久枝一、案浦健 SET-TA による肝内型マラリア原虫の増殖制御メカニズムの解明。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

Izumi Kitazono, Tomohiro Hirai, Kisaburo Nagamune, Tomoyoshi Nozaki, Yumiko Saito-Nakano. Analysis of N-myristoylated Rab5b mediated trafficking pathway in *Plasmodium falciparum*. 第 70 回日本細胞生物学会第 51 回日本発生物学会合同大会. The Joint Annual Meeting of

70th JSCB and 51st JSDB co-sponsored by Asia-Pacific Developmental Biology Network. 2018年6月5-8日、東京

岩崎有紘、小島大輔、小川英俊、保科静香、鄭丞宰、岩月正人、中野由美子、石山亜紀、穂苺玲、乙黒一彦、大村智、野崎智義、末永聖武 抗寄生虫活性を示す海洋天然物の作用機序解明を志向した合成研究。日本ケミカルバイオロジー学会第13回年会、2018年6月11-13日、東京

多久(北園)和泉、平井智浩、永宗喜三郎、野崎智義、中野由美子 熱帯熱マラリア原虫 N-ミリストイル化 Rab5b とその結合タンパク質の局在解析。第26回分子寄生虫学ワークショップ/第16回分子寄生虫学・マラリア研究フォーラム合同大会、2018年9月19日-22日、愛媛

岩崎有紘、岡本慎一郎、藤村遥、工藤隆文、保科静香、澄本慎平、中野由美子、野崎智義、照屋俊明、末永聖武 海洋性鎖状リポペプチド、jahanyne 類の構造と合成、生物活性。第60回天然物有機化合物討論会、2018年9月26-28日、久留米

中野由美子、泉山信司、Ghulam Jeelani、平井誠、川野哲郎、中曽根英子、梅木優子、Sandipan Ganguly、野崎智義 赤痢アメーバミューターを用いたミルテフォシン薬剤耐性株の迅速単離と耐性メカニズムの解析。第88回日本寄生虫学会大会、2019年3月15-16日、長崎

花館有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける EhRab8A GTPase 結合タンパク質 EhCdc50 の同定。第88回日本寄生虫学会大会、2019年3月15-16日、長崎