

## 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サ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・ザ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・代謝機構の統合的解明を目指す研究を展開した。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、肺吸虫症、横川吸虫症・異形吸虫症、裂頭条虫症、テニア症、有鉤囊虫症など）、ならびに動物由来寄生蠕虫症（エキノкокクス症、キンカジュウ回虫症、トキソカラ症など）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、東アジア地域で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、その検査診断法開発に不可欠な寄生虫材料の採取や疫学的情報収集を海外の流行地において行った。裂頭条虫症に関連しては、わが国において輸

入量の多いチリ産養殖サケ・マスに寄生する裂頭条虫の寄生状況調査をチリにおいて実施した。さらに、わが国には分布しないとされたアジア条虫症の国内集団感染事例に関連して、豚レバーにおけるアジア条虫の幼虫（＝囊虫）の寄生状況を調査した。また、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、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、住血吸虫症を主な研究対象とした。マラリアや住血吸虫は、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、いまだ国内にベクターとなる蚊や陸生貝が生息しており、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、研究成果の一部が、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た。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性に関連する膜輸送に関する基礎的研究を、赤痢アメーバ原虫やマラリア原虫を対象として進めた。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（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、ヒューマンサイエンス財団政策創薬総合研究事業費、日本予防医学協会委託事業費、内閣府食品安全委員会委託費等を取得した。

人事面では、人事面では、再任用職員として朝日博子、客員研究員として川中正憲、武田正倫、荒木 潤、影井 昇、松田肇、千種雄一、亀井喜世子、協力研究員として佐藤

暖、渡辺恒二、高岡紀子、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、Jeelani Ghulam, Ahmad Bilal Andrabi Syed, Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として牧内貴志、海老根一生、研究生・実習生として松原立真、富士路花、間瀬望、花館有希、村上佳隆、丸茂このみ、山野安規徳、渡辺なつき、岡崎隆三が在籍し、研究等に従事した。更にメキシコ CINVESTAV から Jesus Flores Valdes が派遣教授として 10 月より 1 年間共同研究に従事した。また、メキシコ心臓病研究所から Erika Pineda が 10 月より 4 ヶ月、モンゴル国立健康科学大学から Narankhajid Myadagsuren が 12 月より 3 ヶ月半、共同研究に従事した。非常勤職員として、中川玲子、村上裕子、武藤麻紀、臨時研究補助員として佐藤映美、中曽根英子、田原美智留、賀川千里、原将子が在籍し、研究等に従事した。客員研究員であった影井 昇が 2013 年 3 月 26 日に逝去された。

## 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・不活化法の開発

###### (1) 消化管寄生原虫検出のためのイムノクロマトキット開発

これまでに開発した抗ジアルジアモノクロ抗体を活用して、ジアルジア抗原検出のためのイムノクロマト検査キットを試作し、その反応性を従来品と比較した。キット形態はストリップ型で、単純に試料に浸漬する簡便な使用方法を考案した。感度・特異性の面で従来品（市販キット）とほぼ同様の成績を得られ、ホルマリン固定試料にも使用が可能であることを確認した。検査時間は試料前処理を含め 20 分程度であり、迅速性は良好であった。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）]

###### (2) 神奈川県の水試料におけるクリプトスポリジウム等遺伝子検出法（qRT-PCR）の導入

クリプトスポリジウム等検査は顕微鏡を使った方法（検鏡法）で行われてきたが、新たに通知された遺伝子検出

法では操作が比較的容易で、核酸抽出した試料の一部を用いて検査を行なうので、同じ核酸抽出物から再検査が可能である等の利点が期待される。この遺伝子検出法の導入を目的とし、qRT-PCR 法の感度と添加回収試験、実試料試験を行った。感度試験からは、遺伝子検出法はオーシスト、シスト共に 10L 試料水中に 1 個あれば、当該 RNA の存在を検出可能と評価された。神奈川県内の河川表流水を試料とした添加回収試験では、qRT-PCR での回収率は約 80%程度であり、検鏡法の回収率と比較しても良好であった。実試料試験では、クリプトスポリジウムの場合、検鏡法と遺伝子検出法の結果は概ね一致したが、ジアルジアで不一致が生じた。ジアルジアは保存中の分解が考えられ、採水後直ちに試料の前処理を行い、遺伝子抽出を行う必要があると考えられた。遺伝子検出法は、高感度で再検査も可能など利便性が高い方法であるが、定性性、定量性の確保には注意が必要と考えられた。

[渡邊洋大、齊藤巧介、上村郁子、北村壽朗（神奈川県企業庁水道水質センター）、泉山信司]

##### (3) 吸引ろ過方式による粉体ろ過法の検討

クリプトスポリジウム濃縮法の一つである粉体ろ過法は、専用の装置とポンプの使用も可能で利便性が高まった。ただし、加圧ろ過方式であることから、ろ過の前に粉体の混合槽、レギュレーター、電磁弁といった構造があり、交換ができないことが問題とされた。装置の汚染は、適切な洗浄を行えば除去できることがわかっている一方で、どれだけ丁寧に洗浄しても汚れの完全除去が困難なことも実験的に確かめられている。今回、分解洗浄やディスポーザブルな部品の使用ができて、汚れを最小限に抑えることが可能な吸引ろ過方式で粉体ろ過法を試みた。吸引ろ過であれば、ろ過前に設置される装置は最小限、ガラス製ファネルだけで済む。ろ過ケーキ層の状態、蛍光ビーズによる捕捉性能評価、原水ろ過水量の確認を行った結果、吸引ろ過方式も加圧ろ過方式と同様の性能であり実際に使用可能であった。[高藤 俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、泉山信司]

##### (4) DyLight488 標識クリプトスポリジウムおよびジアルジ蛍光抗体染色試薬の染色試験

クリプトスポリジウムの検査は検鏡法と遺伝子検査法

で行われているが、検鏡法に使用される蛍光抗体染色試薬は古典的な FITC 標識が主流である。一方、近年の新規な蛍光色素は、FITC と同じアップルグリーンの蛍光色を発するが、退色しづらく長時間の励起光に耐える性質があり、検査への活用が期待される。当該研究では従来の FITC 標識または新規の一例として DyLight488 標識された蛍光抗体試薬を用いて純水や原水に添加したクリプトスポリジウムやジアルジアを染色し、染色性能や B 励起光に長時間暴露したときの退色具合を蛍光顕微鏡観察とデジタルカメラによる写真で比較した。DyLight488 標識蛍光抗体のほうが明るく退色しづらく、観察が容易であった。FITC 標識蛍光抗体では、退色でクロスチェックが困難になる問題もあったが、解消されると考えられた。[高藤 俊(浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ)、大西卓宏((株)環境科学研究所)、宮崎 誠生(アーク・リソース(株))、八木田健司、泉山信司]

#### (5) LAMP 法及び qRT-PCR 法と検鏡法によるクリプトスポリジウム及びジアルジア測定結果の比較

河川水及び畜産排水等を試料水として、原虫類の遺伝子試験法(LAMP 法及び qRT-PCR 法)と現在普及している顕微鏡を用いる方法(検鏡法)の測定結果を比較した。クリプトスポリジウム及びジアルジアともに、河川水試料は 80%以上、特にクリプトスポリジウムでは 100%の一致率となった。一方、畜産試料では、クリプトスポリジウムは 66%、ジアルジアは 81%の一致率であった。遺伝子試験法同士の一致率は高く、qRT-PCR 法からはクリプトスポリジウムとジアルジアの配列が得られており、遺伝子試験法の特異性に問題はなかった。3 方法で結果が一致しなかった原因については、①原虫の少ないサンプルで生じる試料採取時のばらつき、②検鏡法と遺伝子試験法の検出感度の差、③遺伝子試験阻害物質の影響、などが考えられた。実際、糞便が多く含まれる畜産排水試料では、検鏡法のみ陽性となる試料が河川水より多く、阻害物質の影響と推測された。河川水から qRT-PCR 法で得られた増幅産物の塩基配列を決定したところ、クリプトスポリジウムはブタ等畜産由来の型が、ジアルジアは動物由来の型とヒトが感染する可能性がある型が検出された。qRT-PCR 法では原虫類の定量値が、ほとんどの試料で検鏡法の値より低く、特に畜産排水試料でその傾向

が顕著であった。[勝山 志乃、大谷喜一郎(神奈川県内広域水道企業団)、岸田小百合(タカラバイオ(株)ドラゴンジェノミクスセンター)、百田 隆祥(栄研化学(株)生物化学研究所)、泉山 信司]

#### (6) ジアルジア遺伝子検査法の検討～水道原水 30 箇所への適用～

水道事業体の協力を得て、30 箇所の水道原水よりジアルジア試験を行った。遺伝子検査法は、顕微鏡観察と同程度の検出率であった。方法間に結果の不一致が見られたが、異なる遺伝子増幅法間では結果が一致し、遺伝子増幅産物からジアルジアの配列が得られた。10L の河川水を濃縮・精製した後、試料を 2 つに分離して顕微鏡観察とリアルタイム RT-PCR 法に供しているため、特に元の試料中のシスト濃度が数個と低い場合、片方の検査試料にしかシストが入らない可能性があった。ジアルジア検査の意義を鑑みれば、低い汚染の濃度を正確に測定することが求められるのではなく、汚染の有無を確実に定性的に判定すること、一時的な高濃度汚染の定量的検出を目的とした頻回の検査が重要と考えられた。ヒトへ感染する可能性のあるジアルジアの遺伝子型の存在が確認された。[岸田直裕、秋葉道宏(国立保健医療科学院)、原本英司(山梨大学大学院医学工学総合研究部)、岸田小百合(タカラバイオ(株)ドラゴンジェノミクスセンター)、百田隆祥(栄研化学(株)生物化学研究所)、泉山信司]

#### (7) 馬肉生食による食中毒の病因物質とされるサルコシスティスのゲノム解析

馬肉生食による食中毒の病因物質と考えられている *Sarcocystis fayeri* に関して、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行った。生鮮馬肉からザルコシストを得てライブラリを作成し、Illumina HiSeq2000 シーケンサーを用いてリードを取得した。結果として 1.67 億リード、16.7Gbase の配列が得られた。CLC Genomics Workbench を用いて de novo assemble を行った結果、N50 が 3,349bp、最大コンティグ長が 220,145bp、総塩基長が 126Mbp、コンティグ数 68,209 本が得られた。近縁の *S. neurona* の 124Mbp に対して、同等のデータ量が取得できた。カバレッジは 50 倍あり、ペアードエンドリードのペアーがよく維持されており、ゲノム全域の配列がほぼ取得できた

と考えられた。得られた配列には、下痢症状の誘発が推測される 15kDa タンパク質の配列や、近縁の *Toxoplasma* のアピコプラストに相同性の高い配列が含まれていた。

[泉山信司、八木田健司、竹内史比古、関塚剛史、黒田 誠 (病原体ゲノム解析研究センター)、野崎智義]

#### (8) 尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

尿中抗体検出によるマラリア検査診断法については、尿中熱帯熱マラリア原虫抗体価が陰性化するまでの期間について検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、2007 年から 2011 年に採取された尿を用い、熱帯熱マラリア原虫に対する尿中 IgG 抗体価の経年的変化をみた。2007 年に熱帯熱マラリア感染が確認された後、病歴の聴取や顕微鏡的検索から、マラリア罹患の可能性がないと判断された 37 人を対象とすると、感染後 3 年で約 62% (23/37)、感染後 4 年では 80% 以上 (30/37) が陰性化していた。個人及び集団で、熱帯熱マラリア感染状況の経年的変化をみるうえで、尿中抗体の検出は有効な方法となることがわかった。[大前比呂思、伊藤誠 (愛知医大)、亀井喜世子 (平成帝京大学)]

### 2. 蠕虫症診断法・検出法・不活化法の開発

#### (1) イムノクロマト法による血清診断キットの開発と評価

##### ア. マンソン孤虫症の迅速血清診断キットの評価

マンソン裂頭条虫 (*Spirometra erinaceieuropaei*) の幼虫 (マンソン孤虫) がヒトに寄生することによって惹起されるマンソン孤虫症は血清抗体価が著明に増加することから、検査診断に抗体検出が有効である。そこで、平成 23 年度に試作したマンソン孤虫症キットの検出感度と特異性について酵素抗体法と比較検討した。比較にはマンソン孤虫の虫体が確認され、マンソン孤虫症と確定診断された患者血清 (11 検体) を用いてイムノクロマトキットにおけるバンドの強度と ELISA における吸光度との関係を調べた。その結果、イムノクロマトキットによる強度は ELISA の吸光度とほぼ相関し、相関関係を示す Spearman 係数 ( $R_s$ ) は 0.8433 と高い値を示した。さらに、上記マンソン孤虫症患者に加え、マンソン孤虫症以外の寄生虫症患者血清 (143 検体) ならびに健常人血清 (60 検体)、計 214 検体について感度と特異性を比較した。その結果、感度は両検査法とも 90.9% であった

が、特異性については ELISA では 79.3% であったのに対して、イムノクロマトキットでは 94.6% であった。また、推定有病率においてはイムノクロマトキットの推定陽性率と推定陰性率が優っていたことから、イムノクロマトキットの有用性が示された。現在、本キットは当該部で保管管理しており、必要に応じて分与できる体制を取っている。[山崎 浩・武藤麻紀・森嶋康之、小林行治・小林 薫・高山勝好 (アドテック株式会社)、中村 健 (北里大学・医・予防医学)、松岡裕之 (自治医大・医動物)、Wanchai Maleewong・Pewpan Maleewong (タイ・コンケン大・医・寄生虫)]

##### イ. 顎口虫症の迅速血清診断キットの開発

顎口虫症は顎口虫 (*Gnathostoma* spp.) の幼虫がヒトに寄生して引き起こされる寄生虫症であり、本邦では、輸入症例も含めて散発的な発生が見られる。顎口虫症による臨床症状はマンソン孤虫症の症状に類似し、両者は治療薬が異なることから、マンソン孤虫症との鑑別診断が求められる。また、顎口虫症の検査・診断には血清中の抗体検出法が有効であるために、レコンビナント抗原を用いたイムノクロマトキット開発を目的とした研究を行った。平成 23 年度に作製した有棘顎口虫第 3 期後期幼虫由来の cDNA ライブラリー ( $1.0 \times 10^7$  cfu) を用いて、顎口虫症の免疫診断用抗原分子をコードする遺伝子の単離 (クローニング) を確定診断されたタイ人顎口虫症患者血清を用いて行った。一次スクリーニングで得られた 73 個の陽性コロニーについてさらに二次スクリーニングを行った結果、強陽性シグナルを示した 7 クローンが得られた。これら 7 クローンをを用いて、大腸菌でタンパク質として発現させたところ、3 クローンが顎口虫症患者血清と特異的に反応することが判明したために、現在、大腸菌における大量発現系を構築している。[山崎 浩・武藤麻紀、Wanchai Maleewong・Pewpan Maleewong・Penchom Janwan・ (タイ・コンケン大・医・寄生虫)、Tongjit Thanchomnang (タイ・マハサラカム大・医)]

##### ウ. トキソカラ症の迅速血清診断キットの評価

トキソカラ症はトキソカラ属のイヌ回虫 (*Toxocara canis*) やネコ回虫 (*Toxocara cati*) の幼虫がヒトに寄生することによって惹起される幼虫移行症の一つで、世界中で患者発生が見られる。トキソカラ症の診断はこれらの寄生虫に対する特異的

IgG 抗体を検出する血清検査が有効であることから、レコンビナント抗原を用いた、簡易、かつ迅速なイムノクロマトデバイスを用いた血清検査キットをすでに開発した。平成 24 年度には、トキソカラ症例が多いブラジルにおいて、サンパウロ大学熱帯医学研究所血清免疫部門の協力を得て、イムノクロマトキットと ELISA による評価を比較検討した。ブラジル・サンパウロ大学で血清学的、ならびに臨床的にトキソカラ症と診断された患者血清 30 検体、血清学的にボーダーラインの血清 12 検体、それにブラジル人健常者血清 7 検体を用いて、イムノクロマトキットにおけるバンドの強度と ELISA による吸光度との相関について検討した。その結果、トキソカラ症と診断された患者血清については、イムノクロマトキットによるバンドの強度と ELISA における吸光度とはよく相関し、相関関係を表す Spearman 係数 ( $R_s$ ) は 0.799 と高い値を示した。ELISA でボーダーラインと判定された血清や陰性と判定された健常者血清においても、相関関係が示され、ブラジルにおいてもキットの有用性が示された。[山崎 浩・武藤麻紀, *Guita Rubinsky Elephant* (ブラジル・サンパウロ大学熱帯医学研究所), 松岡裕之(自治医大・医動物)]

(2) 人体寄生性肺吸虫の分子鑑別に資するプライマーの評価と応用

ア. ヒロクチ肺吸虫の鑑別法開発

本邦産の人体寄生性肺吸虫 (ウェステルマンおよび宮崎) の鑑別にミトコンドリア・16S リボゾーム DNA の塩基配列がマーカーとして有効であることは報告した。当該領域を効率的に増幅する特異プライマーを作製したので、H24 年度はこのプライマーが東南アジアの主要人体寄生種であるヒロクチ肺吸虫 (*Paragonimus heterotremus*) の鑑別にも適用できるかを検討した。その結果、ヒロクチ肺吸虫の DNA から予想サイズ(464 bp) の増幅産物が得られ、その配列も予想と一致した。また、制限酵素 *ApeKI* はヒロクチ肺吸虫の配列だけを認識し、この酵素を用いた PCR-RFLP も鑑別診断に有効であることが分かった。[杉山 広・武藤麻紀・柴田勝優]

イ. 臨床材料への適用の可能性検討

上述の方法を臨床材料に応用し、原因肺吸虫種の同定を試みた。症例は 28 歳のミャンマー人男性、来日 1 年後に血痰を自覚し、その検査で多数の虫卵が検出され、胸

部 X 線でも結節影を認めた肺吸虫症例である。血痰中の虫卵を出発材料に DNA を調製、PCR 産物の制限酵素処理によりヒロクチ肺吸虫と同定、塩基配列の解読結果からこれを確認した。我々が確立した鑑別法は輸入症例にも適用できることが明らかとなった。[杉山 広, 中鉢正太郎 (東京歯大市川病院)]

(3) 宿主サワガニの加熱・冷凍による肺吸虫感染リスク除去の再検討

ウェステルマン肺吸虫 (2 倍体型) では、感染サワガニを  $-18^{\circ}\text{C}$  で 100 分間冷凍すれば、マウスへの感染が予防できた。今回の検討により、 $-18^{\circ}\text{C}$  のサワガニ冷凍による宮崎肺吸虫の感染予防には、100 分間では不十分で、200 分間の処理が必要であった。宮崎肺吸虫に関しては、より低い温度での処理、あるいは 100 分以上、200 分以下の冷凍処理を行い、感染予防に有効なサワガニの処理条件を絞り込みたいと考えている。[杉山 広・森嶋康之・山崎 浩・柴田勝優, 川上 泰 (麻布大)]

(4) 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。また、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、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を目的として実施した。標的遺伝子はミトコンドリアゲノムにコードされる cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子 (*cox1* 遺伝子) や 12S rRNA 遺伝子とし、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。[武藤麻紀・森嶋康之・杉山 広・山崎 浩]

## II. 疫学・型別・分子疫学的研究

1. 原虫症の分子疫学的研究・調査

(1) 生食用国内産重種馬肉のサルコシスチス汚染実態調査

平成23年より食品衛生法により病因物質と定められた馬肉に寄生するサルコシスチス(*S. fayeri*)の生食用馬肉の汚染実態調査を目的として、国内で誕生し肥育されたことが明らかな重種馬を対象に定量PCR法により*S. fayeri*汚染を調べた。調査対象とした馬は150頭で約93%が北海道産、残りは九州産であった。北海道産の子馬の肥育地は約80%が熊本はじめ九州地域であった。と畜時に横隔膜を採取(生食用)、その一部を検体とした。定量PCRからは国産重種馬肉の汚染量は全般的に低く、食中毒事例残品の1/10～1/100程度で、1検体にのみ残品同等の汚染を認めた。現状では国内での飼育管理また環境上の原虫感染リスクは低い状況であることが推測された。[八木田健司、村上裕子、内田雄治(株式会社千興ファーム)]

(2) *S. fayeri* の輸入馬肉における汚染とその遺伝子型別

カナダ以外の馬肉生産国からの輸入馬肉(冷凍品)に関して定量PCR法を用いて*S. fayeri*汚染実態を調べた。生食用馬肉ではベルギー産、アルゼンチン産は残品以下のレベルであったが、メキシコ産において残品同等の食中毒リスクレベルの汚染が見られた。またペットフード用馬肉においてもメキシコ産で同様な汚染が認められた。これらの*S. fayeri*が検出された試料に関して、これまでの国内と畜馬や輸入馬肉また国内事例残品の試料と合わせ、ITS-1領域をPCR増幅し、その制限酵素切断多型を調べた。その結果、制限酵素Hpa2により多型がみられたが同領域内の変異は少ないことが想定された。[八木田健司]

(3) アカントアメーバ性角膜炎全国サーベイランスと分子疫学的研究

平成23年度より引き続きアカントアメーバ性角膜炎の全国調査が継続された。近年のアメーバ性角膜炎増加の要因を分子疫学的に解析することを目的とする。3施設からの9分離株(角膜4、患者使用の保存液5)を解析し、角膜株には検出頻度の高いATCC30461タイプ、ATCC50370タイプ等のT4に加え、T3タイプも今回検出

された。保存液からの分離株はいずれも患者角膜と同じシーケンスを示した。T3の角膜検出例は少ないことが知られるが、これは、前年度検出されたT11同様、これらのタイプの環境中での割合が低いからである。今年度調査より国内でもT4以外にT3やT11のアメーバも角膜炎に関連することが明らかとなった。[八木田健司、村上裕子、井上幸次(鳥取大)]

(4) レジオネラ属菌遺伝子型とアメーバ感受性

*Legionella pneumophila* SG1株の土壌および冷却塔由来の計5グループ、また土壌、温泉浴槽あるいは冷却塔からの*Acanthamoeba* sp.および*Vannella* sp.を用いて実験感染を行い、菌の遺伝子型とアメーバ感染性の関係を調べた。*Acanthamoeba* においては菌の特定のグループが特定の環境の*Acanthamoeba*と関連している傾向は認められず、菌の遺伝子型分布に*Acanthamoeba*が関連する証左は得られなかった。また*Vannella*においては浴槽分離の株に菌の特定遺伝子型と関連していることを示唆する結果が得られた。レジオネラ属菌感受性の*Vannella*に関しては、同アメーバがシスト化しない性質から実際の環境における宿主としての重要性が高いことが想定された。[八木田健司、泉山信司]

(5) 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究(微生物分科会)

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、塩素消毒に依存した微生物対策の見直しが求められている。当該分科会では研究分担者、協力者との研究協力により、耐塩素性病原微生物と併せて、水道に関連する細菌・ウイルスの研究についての取りまとめを行っている。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌の有効活用例として、災害時対応用貯水槽(飲料水兼用耐震性貯水槽)の衛生管理に活用した。膜ろ過におけるウイルス処理性を、遺伝子組換えノロウイルスVirus-like particlesとimmuno-PCRによる検出法を組み合わせで評価した。単独ではウイルスを除去できない孔径0.1μmのMF膜であっても、前処理として凝集処理を導入することでノロウイルスの除去率は4-Log以上が得られた。耐塩素性病原微生物では、粉体ろ過法のろ過濃縮装置に残る汚染を回

避する目的で吸引ろ過方式を検討し、加圧ろ過方式と同等の性能が得られた。遺伝子検出法の導入を目的とした検討が、新たな事業体で行われた。水道事業体の協力を得て 30 箇所の水道原水よりジアルジア試験を行い、遺伝子検査法と顕微鏡観察は同程度の検出率であった。適切に管理されたブタの畜舎排水処理でも、年間を通してのオーシスト排出が調査から明らかとなった。豚舎毎の排出状況では 3 ヶ月齢以下の離乳したばかりの畜舎が最も多く、排出低減化が今後の課題と考えられた。顕微鏡検査用の FITC 標識蛍光抗体は退色する性質があるが、近年は退色しづらい新規の蛍光色素が開発されており、検査に有用と考えて検討した。[泉山信司、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)、松下 拓(北海道大学大学院工学研究科)]

#### (6) 従属栄養細菌による飲料水兼用耐震性貯水槽の管理について

飲料水兼用耐震性貯水槽において、設置当初から定期的に水質検査を行ってきたが、従属栄養細菌が管理目標設定項目に追加された平成 20 年からは、水質検査項目に従属栄養細菌を追加した。この間の水質に問題はなく、すべての検査において一般細菌、大腸菌は不検出であるが、一部の施設で従属栄養細菌が数百のオーダーで検出された。残留塩素が 0.2mg/L 程度に低下しており、貯水槽内部での滞留発生が疑われた。滞留発生防止策として貯水槽底部からの定期的または常時放水を実施するなどの対策をとった。加えて、貯水槽内面の劣化に伴う生物・微生物の繁殖防止のため、内面防水塗装の更新も進めた。最終的には対策が奏功し、平成 24 年 9 月の従属栄養細菌数は全施設で 1 桁程度となり、緊急貯水槽の衛生状態は改善された。従属栄養細菌は、一般細菌では判断できない緊急貯水槽内の滞留を説明し得た。今後も、緊急貯水槽内の衛生管理に従属栄養細菌の検査を活用して行きたい。[泉山 信司、水野 聡(新潟市水道局技術部水質管理課)、川口有希子(桐生市水道局水質センター)、及川 智(東京都水道局)]

#### (7) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 沖縄ヤギ由来トキソプラズマの分子型別の同定  
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。しかしながらこれらは北米および欧州のヒトや家畜から分離された株のみを用いた解析結果である。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、充分なものとはいえない。そこで今回我々は本邦、特に沖縄で分離されたトキソプラズマの、グローバルな視点での議論に耐えるレベルでの分子タイピングを始めた。その結果、沖縄のトキソプラズマは世界的に見てかなり独特な進化を遂げている可能性が示唆された。[喜屋武向子(沖縄県衛生環境研究所)、永宗喜三郎]

#### イ. 埼玉県のコネコにおけるトキソプラズマの保有状況調査

埼玉県内のネコにおけるトキソプラズマの保有状況について調査した。トキソプラズマに対する血清抗体は、1,293 検体中 71 検体(5.49%)が陽性であった。その中で、トキソプラズマのオーシストが検出されたのは、1 検体(0.08%)のみであったが、当該ネコの血清抗体価は陰性であった。得られたオーシストの分子タイピングを行ったところこの原虫はタイプ 2 に分類されることが明らかとなった。[山本徳栄(埼玉衛研)、森嶋康之、永宗喜三郎]

#### (8) 尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

尿中抗体検出によるマラリア検査診断法については、尿中熱帯熱マラリア原虫抗体価が陰性化するまでの期間について検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、2007 年から 2011 年に採取された尿を用い、熱帯熱マラリア原虫に対する尿中 IgG 抗体価の経年的変化をみた。2007 年に熱帯熱マラリア感染が確認された後、病歴の聴取や顕微鏡的検索から、マラリア罹患の可能性がないと

判断された 37 人を対象とすると、感染後 3 年で約 62% (23/37)、感染後 4 年では 80%以上 (30/37) が陰性化していた。個人及び集団で、熱帯熱マalaria感染状況の経年的変化をみるうえで、尿中抗体の検出は有効な方法となることがわかった。[大前比呂思、伊藤誠(愛知医大)、亀井喜世子(平成帝京大学)]

## 2. 蠕虫症の分子疫学的研究・調査

### (1) キンメダイにおけるアニサキスの寄生状況調査

東京では最近、キンメダイを刺身で喫食する機会が増えていることから、静岡で漁獲され、東京の鮮魚店で販売されていたキンメダイ 11 尾を検査し、アニサキスの寄生状況を調べた。このうち 10 尾がアニサキス陽性であった。検出虫体の総数は 135 隻で、その大半の 121 隻(90%)は *Anisakis physeteris* と同定された。これに次いで、*Anisakis paggiae* が 7 隻、*Anisakis simplex sensu stricto* が 3 隻、*Anisakis brevispiculata* が 2 隻検出された。虫体はいずれも体腔・内臓に寄生し、筋肉は陰性であった。[杉山 広・武藤麻紀・柴田勝優]

### (2) 肺吸虫に関する疫学調査

#### ア. 肺吸虫の待機宿主であるイノシシの生息状況・捕獲状況と食用としての利用状況調査

イノシシは肺吸虫の待機宿主となり、ヒトへの感染源として重要な役割を果たしている。そこで環境省の「鳥獣関係統計(2009 年度、狩猟者登録を受けた者による捕獲鳥獣数)」を用い、2007 年度～2009 年度の 3 年間におけるイノシシの捕獲状況を調査した。その結果、2009 年度では、イノシシの捕獲数は全国で約 16 万頭を数えた。捕獲頭数を地方別にまとめると、近畿が約 23,000 頭、中国が約 26,000 頭、四国が約 18,000 頭、九州・沖縄が約 59,000 頭であった。これらの合計は約 13 万頭弱で、イノシシの約 8 割が西日本で捕獲されていた。しかも、西日本の半数が九州での捕獲であった。この傾向は 2007 年度以降の 3 年間で全く変化がなかった。イノシシは西日本、中でも九州を中心に捕獲されていることを確認した。[杉山 広・森嶋康之・山崎 浩・柴田勝優]

#### イ. イノシシ肉における肺吸虫汚染の実態調査

野生イノシシ肉を入手し、筋肉から肺吸虫幼虫の検出

を試みた。検体の総数は 14 で、内訳は佐賀から 2 検体、大分から 6 検体、宮崎から 6 検体であり、検体肉の重量(体幹部筋肉)は平均 649g(440g～1,100g)であった。検査の結果、大分の 4 検体から平均 3.8 隻(1 隻～11 隻)の肺吸虫幼虫が検出された。虫体の形態を観察し、DNA を抽出して遺伝子配列を解読、種同定を試みた。その結果、何れもウェステルマン肺吸虫(2 倍体型：人体寄生種)と同定された。従来、ウェステルマン肺吸虫の幼虫がイノシシの筋肉から検出された報告があるのは宮崎産のイノシシだけであったが、大分県にも肺吸虫陽性のイノシシが多数分布し、しかも、多数の肺吸虫幼虫が可食部の筋肉に寄生している事が明らかとなった(最高は 650g の肉に 11 隻が寄生)。[杉山 広・荒川京子・柴田勝優・森嶋康之・山崎 浩]

### (3) 豚レバーにおけるアジア条虫の汚染実態調査

豚のレバーを感染源とするアジア条虫感染者が群馬、埼玉、栃木県を中心に発生したことから、これらの地域で生産された豚におけるアジア条虫の幼虫(=囊虫)の汚染実態調査を行った。豚のレバーは毎週 5～10 頭分、食肉検査所や食肉卸業者より購入して検査を実施した。豚レバーの表面、ならびにレバーを厚さ 5 mm 程度にスライスして肝実質部における白色病巣の有無を目視検査した。目視で確認された白色病巣は DNA 検査によってアジア条虫による病巣か否かを確認した。群馬、埼玉、栃木県産の豚、それぞれ 160、50、10、計 220 頭を検査したところ、計 44 個の白色顆粒状病巣が検出された。これらすべての白色顆粒状病巣についてミトコンドリア DNA 解析を行ったが、アジア条虫の感染を裏付ける証拠は得られなかった。[荒川京子・武藤麻紀・森嶋康之・杉山 広・山崎 浩]

### (4) 裂頭条虫に関する疫学調査研究

#### ア. 南米チリにおける裂頭条虫の調査研究

南米のチリは世界有数の養殖サケ・マスの生産国であり、日本はその養殖サケ・マスの主要な輸入国である。このチリ産サケ・マスにヒトに健康被害を及ぼす裂頭条虫属(*Diphyllbothrium* spp.) 条虫の幼虫が寄生していることが確認されており、わが国でもそのチリ産養殖サケ・マスを原因とする裂頭条虫による感染が懸念されている。



今回の調査では、チリ南部の Puerto Montt 近郊で養殖された大西洋サケや Puerto Montt 近郊の養殖地であるジャンキウエ湖 (Llanquihue Lake) とその周辺河川、またチリ南部 Valdivia 近郊のパンギプジ湖 (Panguipulli Lake) とその周辺河川に生息するサケ・マスにおける裂頭条虫幼虫の感染実態を調査した。Puerto Montt の水産市場では大西洋サケとトウゴロイワシをそれぞれ 1 頭と 12 頭調べたが、裂頭条虫幼虫の検出には至らなかった。

一方、ジャンキウエ湖周辺で捕獲したニジマス 3 頭とギンザケ 17 頭から計 42 隻の裂頭条虫幼虫が得られ、寄生率は 50% であった。また、パンギプジ湖周辺では、捕獲数制限のためニジマスとブラントラウトそれぞれ 7 頭と 1 頭しか調査できなかったが、計 357 隻もの裂頭条虫幼虫が主に内臓から得られた。可食部である筋肉内からも少数の幼虫が検出され、寄生率は 100% であった。

現在、DNA 解析に基づいた裂頭条虫種の鑑別を行っているが、これまでの調査結果から、多くは *Diphyllobothrium latum*、あるいは *D. dendriticum* に近縁の種である可能性が示唆された。今後、北米やアジアに分布する *D. dendriticum* との比較解析が必要と考えられた。[山崎 浩・武藤麻紀, 倉持利明 (国立科博・動物研究部), Ruben Mercado (チリ大・医・寄生虫)]

#### イ. 中国における裂頭条虫症調査

H24 年度アジアの感染研様研究所との共同研究促進プロジェクト「中国における食品由来新興寄生虫症に関連した寄生蠕虫の分子同定法の標準化と症例発生の実態解明に向けた共同研究」の一環として、食品由来の新興寄生虫症として裂頭条虫症に関連した人体症例発生の状況調査、ならびに感染源と考えられるサケにおける裂頭条虫幼虫の感染状況を上海において調査した。H23 年度の調査研究では、上海市内の水産市場や百貨店でシロザケが販売され、同地で発生した裂頭条虫症の原因種が日本海裂頭条虫 (*Diphyllobothrium nihonkaiense*) であったことから、原因食材はシロザケと推定された。そこで、H24 年度も同様、上海市においてシロザケを調査したが、シロザケはどの水産市場でも販売されておらず、店頭に並ぶのはノルウエー産の養殖大西洋サケ (現地では三文魚と書く) だけであった。大西洋サケからはヒトに健康被害を及ぼす裂頭条虫の幼虫寄生は報告されていないが、

大西洋サケ 2 頭を購入し、裂頭条虫幼虫の寄生状況を調査してみたが、裂頭条虫幼虫は検出できなかった。わが国で頻発する日本海裂頭条虫症の感染源は中国とロシア国境の黒竜江 (=アムール川) を母川として、オホーツク海～日本近海を回遊するシロザケと考えられているが、シロザケが裂頭条虫にどの海域で感染するのかなど生活史の一部は未だ謎に包まれている。したがって、今後、日本海裂頭条虫の起源、分布や生活史を解明する上で、黒竜江産シロザケに寄生する日本海裂頭条虫の幼虫とヒトから得られる成虫のミトコンドリア DNA のハプロタイプ解析が不可欠な研究であると考えられた。[山崎 浩・武藤麻紀・杉山 広・森嶋康之, 周 曉農・許 学年・除 家旭・除 韶虹・艾 淋・陳 木新・張 永年 (中国 CDC、寄生虫病研究所)]

#### (5) 中国におけるアニサキス調査

タチウオは中国人が嗜好する魚種であること、またサケも中国において刺身として最も良く提供される魚種であることから、アニサキスの寄生状況を調べた。タチウオは合計 336 尾 (青島市, 上海市, 寧波市および深圳市の魚市場で購入) を調べたところ、73 尾からアニサキス I 型虫体が検出された (寄生率: 81.3%)。特に深圳での寄生率が最も高かった (89.4%)。検出虫体は計 1,884 隻におよび、このうちの 407 隻について分子同定を行った。その結果、本邦での人体主要病原種である *Anisakis simplex sensu stricto* は少なく、*A. pegreffii* (特に青島) や *A. typica* (他の 3 都市) が主に寄生していた。一方、シロザケは 2 尾を調べたに留まったが、1 尾が陽性で、検出された 10 隻は総て *A. simplex sensu stricto* であった。日本人が中国でサケの刺身を喫食し、アニサキスに感染する危険性が示唆された。[杉山 広・森嶋康之・山崎 浩・柴田勝優, 川上 泰 (麻布大), 艾 淋・陳 木新 (中国疾病予防対策センター寄生虫病研究所・土源性食源性寄生虫病室), 朱興全 (中国農業科学院蘭州獣医学研究所)]

#### (6) アライグマなど移入動物の動物由来寄生虫調査

アライグマなど移入動物が伝播する動物由来寄生虫症の監視を目的として、神奈川県内 3 市 (横須賀市・鎌倉市・藤沢市) で捕獲駆除された野生動物から採取された糞便を用いて調査を行った。対象となった動物種とその

頭数はアライグマ 82 頭とハクビシン 9 頭で、そのうちアライグマ 2 頭とハクビシン 1 頭から回虫卵が検出された。虫卵の分子同定を行ったところ、すべてタヌキ回虫卵と同定された。その他の寄生虫種としてアライグマ 3 頭からマンソン裂頭条虫卵も検出された。[森嶋康之・武藤麻紀・杉山 広・山崎 浩]

#### (7) キンカジューの回虫汚染状況調査

都内で伴侶動物として飼育中のキンカジューからアライグマ回虫近縁の回虫種(以下、キンカジュー回虫)が検出された。そこで国内における本虫の汚染状況を明らかにするため、まず 7 箇所展览展示施設で飼育されているキンカジュー 19 頭を対象に本虫の寄生状況を糞便内寄生虫卵検査により調査した。結果はすべて陰性であったが、このうちの 4 頭が回虫駆除を目的に駆虫剤投与の経歴を有していた。次に、業者保管の輸入直後の個体と既に一般家庭で飼育中の個体の合計 33 頭も同様に検索した。その結果、6 頭が回虫陽性で、駆虫で得た虫体の塩基配列解読(リボソーム DNA・ITS2 領域)により、すべてキンカジュー回虫であることが分かった。以上の結果から、本虫がキンカジューの輸入を介して既に何度も国内に持ち込まれていることが明らかとなった。本虫の病害性がアライグマ回虫と同様に激烈であるのかを評価するために、現在、各種の実験動物を用いた感染実験を実施中である。[杉山 広・武藤麻紀・柴田勝優・森嶋康之・山崎 浩、平 健介・宇根有美(麻布大)]

#### (8) 統計資料に基づいた寄生虫感染の実態調査

##### ア. 食肉における寄生虫汚染の実態調査

内閣府食品安全委員会からの委託研究として、と畜場法に基づいた食肉検査統計資料を基に、豚と牛における寄生虫の検出頻度や発生の地域集積性について、最近の 11 年間にわたって調査した。豚は全国で年間約 1,600 万頭がと殺され、検査対象である囊虫症は毎年数例検出されていた。しかし、そのほとんどはヒトには感染しない胞状条虫 (*Taenia hydatigena*) の幼虫と推察された。トキソプラズマ症は年間 78~88 例が沖縄県で検出され、他の都道府県での検出例はなかった。また、「その他の寄生虫症」と診断された例は年間約 240,000 件もあったが、原因となった寄生虫の種類は不明であった。

一方、牛は全国で年間約 120 万頭がと殺され、検査対象としての囊虫症は毎年 2~18 例検出されていた。囊虫種は特定されていないが、豚同様、多くはヒトへの感染性のない胞状条虫 (*Taenia hydatigena*) の幼虫による感染と考えられた。ただ、平成 23 年、埼玉県でヒトに感染しうる無鉤囊虫 (*Taenia saginata*) による感染事例が 1 例報告されていた。さらに、ヒトに感染しうる肝蛭 (*Fasciola* spp.) による寄生例が北海道、神奈川県、鹿児島県などを中心に年間 5,000~7,000 頭も検出されている実態が明らかになった。[山崎 浩・森嶋康之・荒川京子・杉山 広]

##### イ. 食肉を原因とするヒトの健康被害例の文献調査

わが国におけるアジア条虫症を含むテニア症や囊虫症の発生状況に関して、医学中央雑誌をもとに平成 2 年~平成 24 年まで過去 23 年間に報告された症例数や当該部への検査依頼によって確認された症例をもとに、地域別発生数、感染源食品、国内・海外感染などを精査した。その結果、テニア症は 104 例が報告され、内訳は無鉤条虫症が 68 例、有鉤条虫症 5 例、アジア条虫症 31 例(疑診例 4 例含む)であった。無鉤条虫症患者 60 例は邦人患者でほとんどは海外(特にアフリカ、東南アジアなど)における感染事例であった。海外渡航歴のない国内感染と考えられる症例が 6 例あった。有鉤条虫症では邦人患者が 4 例で、感染地は東南アジアと推定された。アジア条虫症については現在のところ、関東地方(群馬、埼玉、栃木、東京、千葉)に局限した地域集積性が見られているが、その理由は不明である。

一方、有鉤囊虫症は食肉が直接的な感染源ではないが、最近の 23 年間に 69 例報告され、うち邦人患者は 42 例で、その多くは東南アジアで感染したと考えられた。国内感染と推定された日本人症例 14 例のうち 5 例は沖縄での発生例であった。国内感染と考えられる症例については感染源や感染経路は不明である。[山崎 浩・森嶋康之・杉山 広・荒川京子]

##### ウ. 文献検索による本邦肺吸虫症の発生状況調査

医学中央雑誌を中心に 1991 年以降の肺吸虫症に関連した報告を抽出し、原著を検索して本症の地域別・人種別・原因虫種別の発生状況を解析した。抽出された文献資料のうち、患者の居住地・人種および原因虫種などが

明らかなものは119報で、この中に363症例が含まれていた。患者の発症数は九州（沖縄を含む、以下同様）が61%と他の地域に比較して圧倒的に多かった。しかも、九州では患者の約3分の2を日本人男性が占め、次いで日本人女性（51例、23%）、更に外国人女性（19例、9%）の順であった。一方、九州に次いで発症数の多い関東では、九州と同様に患者の多くは日本人男性であったが（20例、43%）、僅差で外国人女性が続いた（17例、37%）。なお、外国人女性の主たる出身国を見ると、九州では中国（68%）、関東ではタイ（76%）であった。原因虫種は全体ではウェステルマン肺吸虫が88%を占め、宮崎肺吸虫は12%に過ぎなかった（原因種不明・未同定の事例を除く）。しかしながら、関東では宮崎肺吸虫による症例の割合が高くなり、38%に達した。これは東京など大都市に滞在する東南アジア出身の外国人女性が鮮魚店で食用サワガニを購入し、これを使った出身国の料理を加熱なしで摂食して、宮崎肺吸虫に感染したためと推定された。また、九州に多い日本人男性の症例は、地元の食習慣であるイノシシ肉の非加熱摂食が原因で、ウェステルマン肺吸虫に感染したものと考えられた。[杉山 広・賀川千里・柴田勝優・森嶋康之・山崎 浩]

#### （9）日本とカンボジアにおける蠕虫症治療薬使用状況と治療効果の比較、

約100万人のレセプトデータの解析を中心に、日本国内における寄生蠕虫症の診療実態を、診断病名と処方薬の面から調査した。国内での寄生蠕虫症診療での対象疾患では蟯虫症が多かった。使用薬剤ではパモ酸ピランテルが殆どで、国際的には消化管寄生線虫の第1選択薬とされるアルベンダゾールやメベンダゾール、或いは吸虫症や条虫症の第1選択となるプラジカンテルの処方例は少なかった。一方、カンボジアでのメベンダゾール集団治療（投与量500mgでの1回投与）後に、鉤虫卵陽性となった例について、アルベンダゾールによる再治療（投与量400mgでの1回投与）を行ったところ、全例で虫卵の陰性化が確認された。日本国内でも、国際標準に即した、ベンズイミダゾール系薬剤やプラジカンテルの適応拡大が、検討されるべきである。[大前比呂思・杉山広・山崎浩、千種雄一（獨協医大）、Muth Sinuon (CMPV, カンボジア)]

### III. 分類・同定・臨床

#### （1）チリの野生鳥獣に寄生する裂頭条虫

チリにおける裂頭条虫症の生活環や感染経路に関する調査研究の一環として、チリ産の野生鳥獣（オタリアやアデリーペンギン）やイヌ・ネコなどペット動物から得られた裂頭条虫（9検体）について、チリにおける裂頭条虫の生活史解明のために、形態とミトコンドリアDNA解析に基づいた種の鑑別を実施した。その結果、3頭のオタリアから得られた条虫3隻のうち太平洋裂頭条虫（*Adenocephalus pacificus*）が1隻、2隻が広節裂頭条虫（*Diphyllobothrium latum*）とそれぞれ同定された。しかし、広節裂頭条虫については再確認のための精査を行っている。一方、1頭のアデリーペンギンから採取された条虫1隻については現在、精査中である。イヌやネコから得られた4隻の条虫は広節裂頭条虫と同定された。[山崎 浩・武藤麻紀、倉持利明（国立科博・動物研究部）、Ruben Mercado（チリ大・医・寄生虫）、Fernando M. Fredes（チリ大・獣医・寄生虫）]

#### （2）アジア囊虫の豚レバーにおける発育と病理組織学的検索

アジア条虫はわが国には分布しない寄生虫であったことから、病態に関する情報が不足していた。そこで、3頭のクラウン系ミニブタを用いて感染実験を行い、肉眼、ならびに組織学的所見を得た。実験は、群馬県在住の患者から駆虫されたアジア条虫の片節をミニブタ1頭当たり4個（約10万個の虫卵を含む）経口投与し、投与後9日目、20日目、30日目に剖検して、肝臓、心臓、横隔膜、大網、舌など諸臓器における寄生状況や病理所見を精査した。その結果、感染後9日目では、アジア囊虫による病巣は直径1mm程度、表面に凹凸のある不規則な白色円形の腫瘤として観察された。また、病巣の断面からは乳白色の膿汁が流出したが、顕微鏡観察では幼虫の発育と生存が確認された。肝臓以外の臓器ではアジア囊虫の寄生は認められなかった。さらに、感染後20日目、30日目の肝臓では、病巣は互いに融合して径2~3mmほどの白色腫瘤として観察されたが、病理組織学的には虫体の変性、あるいは死滅を示す所見が得られた。[森嶋康之・

杉山 広・山崎 浩・荒川京子,岩永健裕・鳥取潤一 (株  
ジャパンファーム クラウン研究所) ]

#### IV. 生理・生化学・分子生物学

1. 原虫症の生物学・ゲノム・病原機構・代謝・膜輸  
送に関する研究

赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる  
研究

赤痢アメーバリソソーム酵素輸送機構の解明

ア. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体 CPBF6 の  
機能解析

我々は以前に赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)の重  
要な病原因子であるシステインプロテアーゼ(CP)の輸送  
と成熟化に関与するレセプター分子: cysteine protease  
binding protein family 1: CPBF1 を同定した。CPBF6 は  
CPBF1 のファミリー分子であるがリガンドとして  $\alpha$ -,  $\gamma$   
-amylase と結合すること、CPBF6 の遺伝子発現抑制株の  
解析より CPBF6 が amylase を貪食胞へ輸送する受容体と  
して働くことが示された。また、CPBF6 の細胞内ドメイ  
ンを欠損させた変異体の解析から細胞内ドメインの N 末  
端側 1/2 の領域に局在を制御する機能があることが明ら  
かとなった。以上より、CPBF6 が多様な加水分解酵素を  
輸送する分子群であることが明らかとなった。[古川敦、  
津久井久美子、野崎智義]

イ. ヘビアアメーバ *Entamoeba invadens* の細胞分化の分  
子機構の解明

人に感染する赤痢アメーバはシスト化の実験系が確立  
していないため、爬虫類を宿主とする *Entamoeba*  
*invadens* のシスト化をモデルとして解析を行った。以前  
行ったシスト化の経時変化に伴うトランスクリプトーム  
解析より、シスト化誘導初期 (0.5、2 時間) で発現上昇  
がみられる遺伝子として見出された Major Facilitator  
Superfamily (MFS)輸送体, Na/H exchanger (NHE)について  
解析を行った。それぞれ HA-タグを付した強発現株を樹  
立し局在を解析したところ MFS 輸送体は小胞体に NHE  
はリソソームに局在した。今後、各発現抑制株の作成や  
in vitro での活性測定を行い機能解析を進める。[間瀬望、  
津久井久美子、野崎智義]

ウ. 比較ゲノミクスから明らかとなった新規赤痢アメ  
ーバ病原関連遺伝子の解析

i. AIG1 family protein の機能解析

赤痢アメーバ国内分離株の比較ゲノミクスから見出し、  
非病原性株で特異的に欠損していることが明らかとなっ  
た 3 種類の AIG1 family protein (AIG-15, 17, 37) につい  
て、機能解析を行った。C-末端側に HA タグを付した強  
発現株を作成し、細胞の形態を観察すると AIG-17 強発  
現株で細胞突起の形成が有意に促進されていた。また  
AIG-37 遺伝子発現はシステイン枯渇培地で発現上昇が起  
こることから酸化ストレスに応答することが明らかとな  
った。AIG-15, 17, 37 は非病原株ですべて欠損しているた  
め、細胞運動や酸化ストレス応答など、多様な細胞機能  
が変化し、病原性を低下させていると考えられた。[津久  
井久美子、佐藤映美、今田美穂子、野崎智義]

ii. 病原性の異なる赤痢アメーバ国内分離株の RNA-seq  
解析

腸アメーバ症由来 KU50 株、アメーバ肝膿瘍由来  
KU48 株、非病原株 KU27 の 3 株について RNA-seq 解析  
を行った。ScriptSeq v2 RNA-seq library preparation kit  
(Epicentre)でライブラリーを作成し、MySeq (Illumina)で  
解析を行った。取得されたデータは CLC genomics  
workbench (CLC bio)により品質管理(トリム処理)とリフ  
ァレンスゲノム(HM-1 株, AmoebaDB)へのマッピングを  
行い、赤痢アメーバゲノムデータベースに存在する ORF  
の発現量情報(reads per kilobase of exon model per million  
mapped reads = RPKM 値の scaling 方法による normalized  
expression value)として解析を行った。まず KU27 で発現  
が無くそのほかの株で有意に発現している遺伝子を抽出  
したところ以前の比較ゲノミクスで見出された AIG1-17  
が再度検出された。次に KU27 に対し KU48、KU50 で発  
現量が 2 倍以上上昇もしくは下降している遺伝子を抽出  
したところもっとも変動が多かったのは注釈情報の無い  
遺伝子で、上昇、下降どちらも 35%がこのカテゴリーで  
あった。KU27 で発現上昇傾向があると考えられる遺伝  
子群は aa-rich, AIG1, cytoskeleton, surface, KU27 で発現抑  
制傾向があるのは ribosome, ubiquitine-proteasome に関与  
する遺伝子群と考えられた。今後これらの遺伝子と病原  
機構への関与を明らかにしていきたい。[津久井久美子、

佐藤映美、泉山信司、関塚剛史（病原体ゲノム解析センター）、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）野崎智義]

エ. 赤痢アメーバにおける膜輸送の機能解析

i. 赤痢アメーバのファゴソームに局在する Rab の解析

ヒトなどの他種生物では Rab8 は細胞膜への輸送を担っており、細胞極性の維持を担っている。一方で、赤痢アメーバでは EhRab8a がファゴソームに局在することが報告されている。そのため、貪食における EhRab8a の機能を解析した。EhRab8a 発現抑制株を作製したところ、ラテックスビーズや赤血球の貪食効率が低下した。細胞表面のビオチン化実験により、Rab8 発現抑制株では 170kDa の表面タンパク質が細胞表面への提示に障害があることが示された。現在、170kDa の表面タンパク質の同定を進めている。また、EhRab8a の細胞内局在を観察するとともにエフェクター分子の単離も試みている。[花館有希(東邦大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

ii. 赤痢アメーバに特異的な RabX3 の解析

Rab は分子量約 20kDa の GTPase である。しかし、100 種以上ある赤痢アメーバの Rab の中で RabX3 は C 末端が伸長しており、その C 末端領域には GTP 結合領域の一部分と Rab に特有の switch II 配列が存在していた。RabX3 のホモログは他種生物には存在せず、Entamoeba 属に保存していた。RabX3 の細胞内局在は大部分が可溶性画分であるが、一部分の RabX3 は脂質修飾部位を持たないのにも関わらず、弱く膜に結合していることが分かった。組換え精製タンパク質を用いた生化学実験により、全長の RabX3 はヌクレオチド結合能があり、さらに GTPase 活性は他の Rab GTPase に比べて非常に遅いことが分かった。現在、RabX3 の C 末端ドメインの意義について構造学的解析を進めている。[中野由美子、Sunando Datta (インド)、野崎智義]

iii. 赤痢アメーバの肝膿瘍形成に関与する Arf GTPase の解析

肝膿瘍から単離された病原株と、in vitro で長期間維持した非病原株の比較トランスクリプトーム解析により、病原株で発現が上昇している遺伝子として Arf GTPase の

一つのアリソタイプ (ArfA2) を得た。ArfA2 の不活性化型の形質転換株をハムスターの肝膿瘍モデルに接種すると、肝膿瘍の形成効率が低下することが分かった。さらに ArfA2 の不活性化型株は、酸化ストレスではなく、一酸化窒素ストレスに感受性があることが分かった。よって、ArfA2 は肝臓でのアメーバ免疫系に抵抗して生存するのに重要な経路を担っていることが分かった。[中野由美子、花館有希、岡田麻美、中曾根英子、William Petri (米国)、野崎智義]

オ. 赤痢アメーバの高度に変化したミトコンドリアの解析

i. 赤痢アメーバのマイトソームの代謝と生理機能の解析

赤痢アメーバは嫌気的環境に適応し、酸素を電子受容体とする酸化的リン酸化によるミトコンドリアでの ATP 合成を行うことができない。赤痢アメーバのマイトソームはマイトソームと呼ばれ、その構成タンパク質、輸送機構、代謝機能は、他種生物と大きく異なる。赤痢アメーバにおけるマイトソームの主な代謝の役割は硫酸の活性化であり、硫酸化脂質の合成である。赤痢アメーバにおける硫酸化脂質の合成に係る酵素を同定し、その感染における役割を詳細を明らかにするために、赤痢アメーバの硫酸転移酵素をゲノムから同定し、その遺伝子発現抑制株を確立するとともに、硫酸化された脂質をコレステロール硫酸と同定した[見市文香 (佐賀大学)、牧内貴志、津久井久美子、野崎智義]

ii. 赤痢アメーバのマイトソームのタンパク質輸送機構の解析

赤痢アメーバのマイトソームへのタンパク質輸送機構は全く未知であり、その解明はミトコンドリアタンパク質輸送機構の進化への知見を与えると予想される。ゲノム情報から他種生物との間で保存されたミトコンドリア外膜輸送体の中心穴コンポーネントである Tom40 を同定した。これをもとに生化学的手法により Tom40 と結合する新規タンパク質 Tom60 を同定した。Tom60 は他種生物で保存しない全く新規のタンパク質であり、細胞質内で合成されたマイトソームタンパク質に結合し、マイトソーム外膜への誘導する輸送体分子であることが示された。[牧内貴志、見市文香 (佐賀大学)、津久井久美子、野

崎智義]

(3) トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかか研究

ア. トキソプラズマやマラリア原虫の産生する植物ホルモンの解析

i. 植物ホルモン サイトカイニンによるトキソプラズマの増殖制御機構の解明

サイトカイニンには植物が自然界で生合成しているものと人工合成されたものに大別でき、いずれも細胞分裂の促進、光合成の活性化、葉緑体の分化・増殖といった作用を持つことが知られている。昨年度までの研究により、天然サイトカイニン (trans-zeatin) は高等植物の知見から期待されるとおりトキソプラズマの式措置由来オルガネラであるアピコプラストの分裂を促進させたが、合成サイトカイニン (thidiazuron) は逆に原虫からアピコプラストを消失させることを明らかにした。本年度は trans-zeatin 処理によるアピコプラスト分裂の経時的変化を観察した。その結果、原虫内のアピコプラスト分裂は培養開始後徐々に顕著になっていく様子が観察された。また、アピコプラストの分裂に関与していることが報告されているセントリンやDynamamin-related protein A (DrpA) もアピコプラストの分裂に付随してアピコプラストへの局在が上昇/消失していた。[田原美智留、永宗喜三郎]

ii. トキソプラズマやマラリア原虫の産生する植物ホルモンの網羅的探索

トキソプラズマやマラリア原虫の産生する植物ホルモンの網羅的探索を行った。その結果、特にマラリア原虫においてある種のホルモンが非常に高濃度で蓄積していることが判明した。そこで、そのホルモンの分解酵素を導入した組換えネズミマラリア原虫を作製しその表現型を解析したところ、ネズミマラリアの致死活性や脳マラリア発症など重症化に影響を与えていることが判明した。現在、マラリア発症におけるこのホルモンの意義をより詳細に検討中である。[松原立真 (筑波大学)、永宗喜三郎]

iii. シストにも有効な抗トキソプラズマ薬シード候補の探索

トキソプラズマは宿主体内に組織シストの形で存在し続ける。シスト壁に囲まれている組織シスト内には宿主

の免疫反応も届かず、有効な薬剤も存在しない。一方、トキソプラズマは植物ホルモンの一種であるアブシジン酸を産生しており、原虫はこのホルモンにより組織シストへの分化を制御している事を明らかにしてきた。すなわちトキソプラズマの組織シストの生存にも今まで明らかにしてきた、植物ホルモンの情報が適用できる可能性が考えられた。そこで、各種の植物ホルモンや生合成阻害剤、その他の物質を *in vitro* で分化させた組織シストに添加し、その影響を調べた。その結果、抗シスト効果を持つ物質がいくつか見出された。現在、その詳細を確認中である。[山野安規徳 (筑波大学)、永宗喜三郎]

イ. トキソプラズマ感染における *evacuole* 形成機序の解析

トキソプラズマが宿主細胞内で増殖する際、宿主の機能を「ハイジャック」し利用していることはよく知られているが、このハイジャックは原虫が宿主細胞内に注入するタンパク質群であるロプトリータンパク質によってコントロールされている。ロプトリータンパク質は、原虫の宿主侵入の際に、原虫とは独立して小胞 (*evacuole*, *eV*) として原虫から宿主に注入される。一方で、細胞膜上には、コレステロール、スフィンゴ糖脂質などの特定の脂質成分や、GPI アンカー型タンパク質などが濃縮して局在化する、動的な脂質領域 (脂質マイクロドメイン) が存在する。そこで今回、トキソプラズマ感染における宿主細胞の脂質マイクロドメインの役割について解析した。まず、コレステロールが原虫の *parasitophorus vacuole* (PV) 及び *eV* 形成に及ぼす影響を調べた。細胞膜からコレステロールを引き抜く作用がある methyl- $\alpha$ -cyclodextrin ( $M\beta CD$ ) で宿主細胞を処理し、細胞のコレステロール含量を減少させることで脂質マイクロドメインの構造を破壊したところ、原虫の侵入効率、すなわち PV 形成能力は変化しなかったが、*eV* 形成は明らかに減少した。また、昨年度見出した GPI 欠損変異細胞における *eV* の過剰形成は  $M\beta CD$  により相補できなかった。これらのことから、宿主の脂質マイクロドメインに存在するコレステロールと GPI は、原虫による *eV* の形成に対してそれぞれ独立的に作用し、正常な *eV* 形成にはこの 2 種類の脂質のバランスが重要であるが、PV 形成には両者は関与していない可能性が示唆された。[田原美智留、永宗喜三郎]

ウ. トキソプラズマをモデルとした抗マラリア薬作用機序の解明

三日熱マラリアは熱帯熱マラリアと比べ、症状は軽いが治療後数ヶ月～数年後に再発するという特徴があり、この再発は肝臓に形成されるヒプノゾイトが原因である。プリマキンは三日熱マラリアの唯一の根治薬として、半世紀以上前から今日まで使用され続けている。しかし三日熱マラリア原虫は連続培養系が確立されていないため、プリマキンの原虫に対する作用機序は殆ど解明されていない。そこで三日熱マラリア原虫と近縁なトキソプラズマを用いて、プリマキンの原虫に作用するメカニズムの解明を試みた。前年度に確立したプリマキン耐性トキソプラズマ株より RNA を抽出し、次世代シーケンサーで RNA-seq を行った。その結果、得られた 4 クローンは全て共通の遺伝子に変異が入っており、この遺伝子がプリマキン耐性の責任遺伝子である可能性が強く示唆された。現在この遺伝子による耐性メカニズムについて詳細を解析中である。[富士路花 (筑波大学)、田原美智留、永宗喜三郎]

エ. 宿主細胞外トキソプラズマにのみ特異的に形成されるリソソーム様オルガネラについての解析

これまでトキソプラズマにはリソソームがないとされてきた。しかし最近次第に宿主細胞外のトキソプラズマにのみ PLV (plant-like vacuole) や VAC (Vacuolar compartment) と呼ばれる、酸性でプロテアーゼを含みタンパク質のプロセッシングに関わると考えられるリソソーム様のオルガネラがあることが明らかにされてきた。今回我々は改めてトキソプラズマにおけるリソソームの有無を確認するために、哺乳細胞においてリソソーム指示薬として使用されるライソトラッカーを用いて宿主細胞外のトキソプラズマを染色した。すると細胞外トキソプラズマは宿主細胞内寄生虫には認められない、ライソトラッカーで染まりかつ多量のカルシウムイオンを含むオルガネラがあることがわかった。このオルガネラの詳細を検討した結果、この酸性オルガネラは既報の PLV であることが判明した。しかし、このオルガネラについてより詳細に観察した結果、今まで同一のオルガネラであると考えられてきた VAC と PLV は別のオルガネラで、さらに PLV は酸性度の違いやタンパクの局在の違いにより PLV0、PLV1 および PLV2 の 3 種類に分類できることが

明らかとなった。現在これら 4 種類の宿主細胞外ステージのトキソプラズマに特異的なオルガネラの存在意義についてさらに詳細に検討中である。[富士路花 (筑波大学)、永宗喜三郎]

(1) マラリア原虫の生物学・病原機構・代謝に関する研究

ア 熱帯熱マラリア原虫の赤内型分化増殖機構に関する研究

i. 輪状体から分裂体への分化抑止に関する因子解析  
熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の赤内型分化増殖を制御している因子を特定し、治療薬およびワクチン開発に役立つための研究を継続して行っている。先に作出した CDM (chemically defined medium) では構成成分を僅かに変化させることで分化増殖を異なる段階に制御出来る事が判明した事から、輪状体 (ring form) から分裂体 (schizont) への分化抑止に関与する考えられる因子を genome-wide gene expression analysis でプロファイルした。その結果、26 の蛋白分子が選択でき、それらは 6 つのカテゴリーに分類できた。[朝日博子、Tolba, M.E.M. (エジプト国 アシット大学)、田邊将信 (慶応大学)]

ii. copper homeostasis perturbation によって生じる分裂体への分化抑止

ring form から schizont への分化抑止に関与する考えられる因子として 26 の蛋白分子が選択でき、その中で 5 の蛋白分子は特に ring form から trophozoite への分化抑止に関与すると考えられた。この中に copper homeostasis に関連する分子 (copper channel) が認められた事から、chelating method を用いて、copper homeostasis perturbation と *P. falciparum* の分化増殖の関連を調べた。その結果、還元型 copper ion の除去によって、schizont への分化は完全に抑止され、すべての原虫が ring form に止まる事が判明した。酸化型 copper ion には作用は認められなかった。[朝日博子、Tolba, M.E.M. (エジプト国 アシット大学)]

iii. non-esterified fatty acids (NEFA) による分裂体への分化抑止と回復

*P. falciparum* の赤内型原虫は、16 炭素長の飽和型 NEFA

によって ring form から schizont への激しい分化抑止が生じる。この現象は、copper homeostasis perturbation によって引き起こされる分化抑止と類似する事から、*P. falciparum* の copper homeostasis に寄与すると考えられる 4 つの分子 (copper channel, Ctr Cu transporter, cytochrome C oxidase copper chaperone, P1B ATPase) の発現を qRT-PCR で解析した。その結果、前者 2 分子に顕著な低下が認められ、これによって copper ion の機能不全が誘導され、原虫の分化抑止が生じているものと推測された。[朝日博子、Tolba, M.E.M. (エジプト国 アシット大学)、田邊将信 (慶応大学)、菅野純夫 (東京大学)]

#### イ 熱帯熱マラリア原虫の有性生殖期への分化に関する研究

マラリア原虫では媒介蚊に感染を移行させる為に必須となる有性生殖体 (生殖母体) への分化機構は全く不明のまま取り残されている。この難問に取り組むために東南アジアにおけるマラリア流行地域で、細胞学的・分子疫学的調査を行ってきた。その結果、インドネシア国で全て生殖母体に転換する野性株を見出した。東南アジアの大陸部(カンボジア・ベトナム・ミャンマー)と島嶼部(インドネシア)に分布する熱帯熱マラリア原虫の差異について、人工培養適応性による細胞生物学的検討と遺伝子解析によってさらに詳細に検討する。[朝日博子、Kawamoto F. (インドネシア国、ITD)]

#### ウ マラリア原虫の小胞輸送の解析

Rab は小胞輸送における膜融合の鍵因子の一つである。マラリア原虫のゲノムにある 11 種の Rab のうち、Rab5b は他の Rab と脂質修飾が異なるなど特徴的な構造を有しており、マラリア原虫やトキソプラズマ原虫など一部のアピコンプレクス門原虫にのみ保存されていることから、これらの原虫種特有の小胞輸送経路に関与していると考えられる。Rab5b の局在解析から、Rab5b が未知のオルガネラに局在すること、感染赤血球内に運ばれていることが明らかになった。また、マラリア原虫では Rab5b の脂質修飾が感染赤血球内の TVN と呼ばれる膜構造への局在シグナルとして機能することが示された。[海老根一生、中曽根英子、中野由美子]

## 2. 蠕虫症の生物学・病原機構に関する研究

### (1) エキノコックス原頭節の分化関連遺伝子に関する研究

エキノコックス属の条虫幼虫は原頭節という特異的な形態を示す。この原頭節は中間宿主体内では無性増殖し、転移してエキノコックス症が示す強い病原性の原因となる。一方、原頭節が終宿主に経口摂取された場合は、同発育ステージである原頭節へと再分化するのではなく、成虫へと分化し、有性生殖を行って感染源となる虫卵を産生する。このようなエキノコックス属条虫の各発育ステージに特異的に発現する遺伝子群を網羅的に同定し、その制御機構を解析することを目的として、今年度は成虫型へ分化誘導したエキノコックス原頭節についてマイクロアレイによる遺伝子発現量の変化を測定し、分化の決定がなされる時期を明らかにした。[森嶋康之・杉山広・山崎 浩]

## 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 33 回衛生微生物技術協議会 (6 月 28~29 日, 横浜) において寄生虫レファレンスセンター会議を行い、クドア、サルコシスチス、アジア条虫症を中心に、寄生虫による食中毒の傾向をまとめた。アジア条虫症は 2010 年のような発生はみられなかったが、2011 年、2012 年も散発的発生が続いた。冷凍処置に関する厚生労働省からの通知が出た後、サルコシスチスの報告数は大きく減少したが、クドアについては、明らかな減少傾向はみられず、引き続きサーベイランス強化の必要が指摘された。[大前比呂思, 山崎浩, 八木田健司, 杉山広, 森嶋康之, 八木田健司, 野崎智義]

### II. 病原体検出マニュアルの改訂、情報公開

病原体検出マニュアル「クリプトスポリジウム症・ジアルジア症等の原虫性下痢症」「赤痢アメーバ症」「エキノコックス症」を改定した。また、地方衛生研究所から要望のあった「寄生虫卵の検査法」についても検査マニュアルを新たに作成した。[阿部仁一郎 (大阪市立環境科学研究所、吉田 永祥 (堺市衛生研究所)、鈴木 淳 (東京都健康安全研究センター)、黒木 俊郎 (神奈川県衛生研究所)、八木田健司、泉山 信司、津久井久美子、森嶋



康之、杉山 広、山崎 浩]

### III. 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。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を3件受け入れ、携帯検査の再確認と遺伝子検査を併用して同定した。[八木田健司、泉山信司、津久井久美子、永宗喜三郎、中野由美子、大前比呂思]

### IV. 蠕虫類のレファレンス活動

平成24年度には、計88件の寄生虫症依頼検査があり、うち76件が寄生虫症と確定診断された。

#### (1) 血清を用いた寄生虫抗体検査

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、広東住血線虫）、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。有鉤囊虫症とエキノкокクス症については、それぞれ市販のウェスタンブロット法によるキットを用いて検査した。トキノカラ症、肺吸虫症、およびマンソン孤虫症に関しては、当該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。旋尾線虫症については免疫染色法を、その他の寄生蠕虫症についてはplate-ELISAを適用した。血清検査依頼件数30のうち15検体で特異抗体が検出された。内訳は *Anisakis simplex* によるアニサキス症(4)、ウェステルマン肺吸虫症(4)、マンソン孤虫症(2)、有鉤囊虫症(2)、宮崎肺吸虫症(1)、ヒロクチ肺吸虫症(1)、旋尾線虫症(1)であった。[山崎 浩・武藤麻紀・杉山 広・森嶋康之]

#### (2) 遺伝子解析による寄生虫の分子同定

自然排出された虫体や駆虫された虫体、あるいはパラフィン包埋標本中に見出された虫体の遺伝子鑑別依頼数は60件あった。基本的にはミトコンドリアDNAのcox1

遺伝子の塩基解析結果に基づいて種の同定を行った。その結果、最も多かった寄生虫は日本海裂頭条虫(23)、次いで無鉤条虫(14)、*Anisakis simplex* (10)、アジア条虫(4)、ウェステルマン肺吸虫・3倍体型(3)、マンソン裂頭条虫近縁種(1)、宮崎肺吸虫(1)、有鉤囊虫(1)、クジラ複殖門条虫(1)、ヒロクチ肺吸虫(1)、有鉤囊虫(1)であった。傾向としては、サケ・マスの刺身や寿司を好む日本人の食生活習慣を反映して、日本海裂頭条虫症が相変わらず多く、輸入症例として無鉤条虫症も多くみられた。H23年度に関東地方で頻発したアジア条虫症はH24年には激減した。[山崎 浩・武藤麻紀・森嶋康之・杉山 広]

#### (3) その他

ヒトから得られたハエ蛆の鑑別依頼が1例あった。この幼虫は飼育によって羽化した成虫の形態からヒロズキンバエと同定された。[森嶋康之・杉山 広・山崎 浩、林利彦（感染研・昆虫医科学）]

## 研修業務・審議会など

I. 平成24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、水道源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(2月)。その他、地研からの要請に対して適宜行った。[八木田健司、泉山信司]

II. 平成24年度、希少感染症診断技術研修会において「トキノプラズマ」をテーマに講演を行った。(2月)[永宗喜三郎]

## 国際協力関係業務

### 1. アジア等海外の研究機関との連携

i. インド国立コレラ腸管感染症研究所(National Institute of Cholera and Enteric Diseases, NICED)、インド国立科学教育研究所(Indian Institute of Science Education and Research, IISER)との共同研究

NICEDと腸管原虫症、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の分子疫学、寄生適応に関する共同研究を継続して行った。[Ghulam Jeelani、野崎智義、Avik Mukhaje, Koushik Das, Sandipan Ganguly (NICED)]

IISER と赤痢アメーバの低分子量 GTP 結合タンパク質 Rab の構造と機能の解析に関して共同研究を行った。[中野由美子、野崎智義、Sunando Dutta (IISER)]

ii. 台湾 CDC との共同研究

赤痢アメーバの疫学、分子疫学研究を継続して行った [津久井久美子、野崎智義、Dar-der Ji (Taiwan CDC)]

iii. 中国 CDC との共同研究

H24 年度アジアの感染研様研究所との共同研究促進プロジェクト「中国における食品由来新興寄生虫症に関連した寄生蠕虫の分子同定法の標準化と症例発生の実態解明に向けた共同研究」の一環として、中国における食品由来寄生蠕虫症（裂頭条虫症・アニサキス症）の発生状況を調査した。[山崎 浩・杉山 広・武藤麻紀・森嶋康之、周 曉農・許 学年・除 家旭・除 韶虹・艾 淋・陳 穆新・張 永年（中国 CDC、寄生虫病研究所）]

iv. メキシコ中央科学研究所(CINVESTAV)及び心臓病研究所(INC)との共同研究

赤痢アメーバの病原性機構、RNA スプライシングの分子機構に関して CINVESTAV と共同研究を行った。また、INC とは赤痢アメーバの中心エネルギー代謝の共同研究を行った。両方の研究施設からは 4-12 ヶ月の人的交流を受けた。[津久井久美子、野崎智義、Mineko Shibayama、Victor Tsutumi、Guillermo Perez Ishiwarra、Jesus Flores Valdes (CINVESTAV)、Erika Pineda、Emma Saavedra (INC)]

2. Field Epidemiology Training Program (FETP) 初期研修に協力し、「国際的な寄生虫対策と疫学の変化」に関する研修を行った。[大前比呂思]

3. 国際協力機構（JICA）の中米向け研修コース、輸血血液の安全性に協力して、マラリアと輸血に関する講義を行うと同時に、アクリジン・オレンジ染色法や LAMP 法による遺伝子検査法の講義との実習を行った。[大前比呂思、中野由美子、泉山信司、布施晃（血液・安全性研究部）]

4. 国際協力機構（JICA）の研修コース、地域保健シ

ステム強化による感染症対策に協力して、「寄生虫症のサーベイランスと対策」に関する研修を行った。[大前比呂思]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 原著論文、総説（欧文）

- 1)Penuliar, G. M., Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., Husain, A., Sato, D., and Nozaki, T. Transcriptional and functional analysis of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. J. Antimicrob. Chemother. 67, 375-386, 2012.
- 2)Mishra, V., Kumar, ., Ali, V., Nozaki, T., Zhang, K. Y. J., Bhakuni, V. Role of conserved active site tryptophan-101 in functional activity and stability of phosphoserine aminotransferase from an enteric human parasite. Amino Acids 43, 483-491, 2012.
- 3)Mishra, V., Kumar, A., Ali, V., Nozaki, T., Zhang, K. Y. J., and Bhakuni, V. Glu-108 is essential for subunit assembly and dimer stability of D-phosphoglycerate dehydrogenase from *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol. 181, 117-124, 2012.
- 4)Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Novel transmembrane receptor involved in phagosome transport of lysozymes and  $\beta$ -hexosaminidase in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. PLoS Pathogens 8, e1002539, 2012.
- 5)Christy, N., Hencke, J., Escueta-De Cadiz, A., Nazib, F., Thien, H., Yagita, K., Ligaba, S., Haque, R., Nozaki, T., Tannich, E., Herbein, J., and Petri, W. Multi-site performance evaluation of an ELISA for the detection of *Giardia*, *Cryptosporidium*, and *Entamoeba histolytica* antigens in human stool. J. Clin. Microbiol. 50, 1762-1763, 2012.
- 6)Nakada-Tsukui, K., Tsuboi, K., Furukawa, A., Yamada, Y., and Nozaki, T. A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal transport. Cell. Microbiol. 14, 1299-317, 2012.
- 7)Jeelani, G., Sato, S., Husain, A., Escueta-de Cadiza, A., Sugimoto, M., Soga, T., Suematsu, M., and Nozaki, T.

- Metabolic profiling of the protozoan parasite *Entamoeba* revealed activation of unpredicted pathway during encystation. *PLoS ONE* 7, e37740, 2012.
- 8) Mishra, V., Kumar, A., Ali, V., Nozaki, T., Zhang, K. Y., and Bhakuni, V. Novel protein-protein interactions between *Entamoeba histolytica* D-phosphoglycerate dehydrogenase and phosphoserine aminotransferase. *Biochimie*. 94, 1676-1686, 2012.
- 9) Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Soga, T., and Nozaki, T. Dramatic increase in glycerol biosynthesis upon oxidative stress in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6, e1831, 2012.
- 10) Klionsky D. J., Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy* 8, 445-544, 2012.
- 11) Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Soga, T., Suematsu, M., Nozaki, T. Biochemical and functional characterization of novel NADH kinase in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Biochimie* 95, 309-319, 2013.
- 12) Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Novel TPR-containing subunit of TOM complex functions as cytosolic receptor for *Entamoeba* mitochondrial transport. *Sci. Rep.* 3, 1129, 2013.
- 13) Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Cysteine protease-binding protein family 6 mediates the trafficking of amylases to phagosomes in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. *Inf. Immun.* 81, 1820-1829, 2013.
- 14) Takaoka-Sugihara, N., Yamagami, S., Yokoo, S., Matsubara, M., Yagita, K., Cytopathic effect of *Acanthamoeba* on human corneal fibroblasts, *Mol. Vision*, 18, 2221-2228, 2012
- 15) Ikeda, Y., Miyazaki, D., Yakura, K., Kawaguchi, A., Ishikura, R., Inoue, Y., Mito, T., Shiraishi, A., Ohashi, Y., Higaki, S., Itahashi, M., Fukuda, M., Shimomura, Y., Yagita, K., Assessment of real-time polymerase chain reaction detection of *acanthamoeba* and prognosis determinants of *acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmol.* 19, 1111-1119, 2012
- 16) Kishida, N., Miyata, R., Furuta, A., Izumiyama, S., Tsuneda, S., Sekiguchi, Y., Noda, N., Akiba, M., Quantitative detection of *Cryptosporidium* oocyst in water source based on 18S rRNA by alternately binding probe competitive reverse transcription polymerase chain reaction (ABC-RT-PCR). *Water Res.* 46, 187-194, 2012
- 17) Izumi, T., Yagita, K., Izumiyama, S., Endo, T., Itoh, Y., Depletion of *Cryptosporidium parvum* oocysts from contaminated sewage by using freshwater benthic pearl clams (*Hyriopsis schlegeli*). *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 7420-8, 2012
- 18) Nakada-Tsukui, K., Tsuboi, K., Furukawa, A., Yamada, Y., Nozaki, T., A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal transport. *Cell. Microbiol.* 14, 1299-1317, 2012
- 19) Toyama, T., Tahara, M., Nagamune, K., Arimitsu, K., Hamashima, Y., Palacpac, N.M.Q., Kawaide, H., Horii, T., and Tanabe, K. Gibberellin biosynthetic inhibitors make human malaria parasite *Plasmodium falciparum* cells swell and rupture to Death. *PLoS One* 7, e32246, 2012
- 20) Takeda M., Sugiyama H., Singh T.S. Some freshwater crabs from northeast India bordered on Myanmar. *J. Teikyo Heisei Univ.*, 23, 199-213, 2012.
- 21) Singh T.S., Devi K.H.R., Singh S.R., Sugiyama H. A case of cutaneous paragonimiasis presented with minimal pleuritis. *Trop. Parasitol.*, 2, 142-144, 2012.
- 22) Singh T.S., Sugiyama H., Rangsiruji A. *Paragonimus* and paragonimiasis in India. *Ind. J. Med. Res.*, 136, 192-204, 2012.
- 23) Taira K., Saitoh Y., Okada N., Sugiyama H., Kappel C.M.O. Tolerance to low temperatures of *Toxocara cati* larvae in chicken muscle tissue. *Vet. Parasitol.*, 189, 383-386, 2012.
- 24) Li J., Zhao G.H., Zhou D.H., Sugiyama H., Nisbet A.J., Li X.Y., Zou F.C., Li H.L., Ai L., Zhu X.Q.

- Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism, an electrophoretic approach for studying genetic variability among *Schistosoma japonicum* geographical isolates. *Electrophoresis*, 33, 2859-2866, 2012.
- 25) Sugiyama H., Shibata K., Morishima Y., Muto M., Yamasaki H., Kawakami Y. Current status of lung fluke metacercarial infection in freshwater crabs in the Kawane area of Shizuoka Prefecture, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 75, 249-253, 2013.
- 26) Yamasaki H., Ohmae H., Kuramochi T. Complete mitochondrial genomes of *Diplogonoporus balaenopterae* and *Diplogonoporus grandis* (Cestoda: Diphyllbothriidae) and clarification of their taxonomic relationships. *Parasitol. Int.*, 61, 260-266, 2012.
- 27) Yamasaki H., Muto M., Yamada M., Arizono N., Rausch R.L. Validity of the bear tapeworm *Diphyllbothrium ursi* (Cestoda: Diphyllbothriidae) based on morphological and molecular markers. *J. Parasitol.*, 98, 1243-1247, 2012.
- 28) Ikeda T., Tamura D., Sato Y., Ichihashi K., Matsuoka H., Yamasaki H. Two pediatric cases of *Diphyllbothrium nihonkaiense* infection in summer 2010. *Pediatr. Int.*, 54, 163-165, 2012.
- 29) Nonomura Y., Otsuka A., Endo Y., Fujisawa A., Nakajima N., Minamiguchi S., Miyagawa-Hayashino A., Yamada M., Tegoshi T., Yamasaki H., Kabashima K., Miyachi Y., Tanioka M. Sparganosis mansoni on abdominal skin, mimicking folliculitis and diagnosed by analysis of the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit 1 gene, using polymerase chain reaction. *Eur. J. Dermatol.*, 22, 806-807, 2012.
- 30) Yamasaki H. Current status and perspectives of cysticercosis and taeniasis in Japan. *Korean J. Parasitol.*, 51, 19-29, 2013.
- 31) Yamasaki H. Current status and perspectives of food-borne cestodiasis in Japan. *Proceedings of International Workshop: Emerging parasitic zoonoses: epidemiology, diagnosis and prevention in Asian countries*, 2012.
- 32) Asahi, H., Tolba, M.E.M., Tanabe, M., Ohmae H. Molecular factors that are associated with early developmental arrest of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum*. *Canad. J. Microbiol.*, (in press)
- 33) Asahi, H., Tolba, M.E.M., Tanabe, M., Sugano S. *Plasmodium falciparum*: Regulation of the early developmental stage by lipid growth-promoting factors through copper homeostasis. *Exp. Parasitol.*, (in press)
- 34) Choi, SW., Tamaki, T., Ebine, K., Uemura, T., Ueda, T., Nakano, A. RABA members act in distinct steps of subcellular trafficking of the Flagellin Sensing2 receptor. *Plant Cell*. 25, 1174-87. 2013
- 35) Ebine, K., Uemura, T., Nakano, A., and Ueda, T. Flowering time modulation by a vacuolar SNARE via FLOWERING LOCUS C in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*. 7:e42239, 2012
- 36) Higaki, T., Kutsuna, N., Hosokawa, Y., Akita, K., Ebine, K., Ueda, T., Kondo, N., and Hasezawa, S. Statistical organelle dissection of Arabidopsis guard cells using image database LIPS. *Sci Rep*. 2:405, 2012.
- 37) Kwansa-Bentum, B., Izumiyama, S., Kei Kitamura, K., Obata-Ninomiya, K., Ohta, N., Asahi, H. (2013) Comparative studies of serum-free media and detection techniques for in vitro drug sensitivity assessment of *Plasmodium falciparum*. *Special Issue, Vector-Borne Infectious Disease of OJCD*, in press.
2. 原著論文、総説（和文）
- 1) 八木田健司、食品による寄生動物感染③原虫感染症(1) ザルコシスティス・クドア、防菌防黴、40, 705-714, 2012
- 2) 八木田健司、寄生虫、知って防ごう食中毒、食と健康、665, 10-18, 2012
- 3) 泉山信司、八木田健司、永宗喜三郎、生水と原虫症(生水のリスク)、公衆衛生、76, 50-53, 2012
- 4) 泉山信司、遠藤卓郎、粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮保存法の開発、水道協会雑誌、81, 14-22, 2012
- 5) 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、岸田直裕、島崎大、秋葉道宏、水道クリプトスポリジウム試験法の検査体制維持・向上に係る技術研修の役割、保健医療科学、61, 454-463, 2012
- 6) 泉山信司、八木田健司、黒木俊郎、クリプトスポリジウムとサイクロスポラによる食中毒、日本食品微生物学会雑誌、29, 189-196, 2012
- 7) 泉山信司、八木田健司、食品による寄生動物感染症④原虫感染症(2) クリプトスポリジウム・ジアルジア、

- 防菌防黴、40, 779-785, 2012
- 8) 福土路花、松原立真、永宗喜三郎、*Toxoplasma gondii* ～三日月に恋してる～、原生動物園、3, 3-7, 2012
- 9) 永宗喜三郎 (写真提供、監修)、原生生物 151～大系統分類から眺める原生生物の世界、原生動物園、3, 41-72, 2012
- 10) 永宗喜三郎、トキソプラズマ症とは、感染研 HP、2012 永宗喜三郎、妊婦さんおよび妊娠を希望されている方へ、感染研 HP、2012
- 11) 喜屋武向子、松原立真、永宗喜三郎、食品による寄生動物感染症⑤原虫感染症 (3) トキソプラズマ症と沖縄県におけるトキソプラズマの流行状況について、防菌防黴、41, 19-28, 2013
- 12) 永宗喜三郎、オモロいのは名前だけじゃない！ ～マトリョーシカ型進化原理～、細胞工学、32, 226-231, 2013
- 13) 永宗喜三郎、トキソプラズマ症、IDWR 感染症発生動向調査 感染症週報、15, 20-25, 2013
- 14) 杉山 広、武藤麻紀、大前比呂思、森嶋康之、山崎 浩、銭 宝珍. 中国のタチウオから検出されたアニサキス I 型幼虫の分子同定. 獣医寄生虫学会誌, 11, 31, 2012.
- 15) 杉山 広. 食品による寄生動物感染症 7. 蠕虫感染症 (2) 肺吸虫. 防菌防黴, 41, 165-171, 2013.
- 16) 山崎 浩, 森嶋康之, 八木田健司. 食肉・野生動物の生食と寄生虫症. 公衆衛生, 76, 30-36, 2012.
- 17) 中島直樹, 南口早智子, 山田 稔, 宮川 文, 谷岡未樹, 手越達也, 山崎 浩, 羽賀博典. 皮膚マンソン弧虫症の 1 例. 診断病理, 29, 164-167, 2012.
- 18) 山崎 浩. ペットからの感染症 10 イヌ・ネコ回虫症 (トキソカラ症) 小児科, 54, 65-72, 2012.
- 19) 藤森俊二, 武藤麻紀, 山崎 浩, 坂本長逸. カプセル内視鏡で遭遇した小腸寄生虫の 2 例. *Clin. Parasitol.*, 23, 20-22, 2012.
- 20) 物部寛子, 野村 務, 出月健夫, 郡司真理子, 堀内啓, 森嶋康之, 武藤麻紀, 杉山 広, 山崎 浩. *Dirofilaria repens* 感染による皮下結節例. *Clin. Parasitol.*, 23, 49-52, 2012.
- 21) 佐藤 亮, 三角祐生, 上見葉子, 下川恒生, 檜田直也, 岡本浩明, 加志崎史大, 石井真理, 相佐好伸, 神谷一徳, 吉津 晃, 吉田幸子, 武藤麻紀, 山崎 浩, 杉山 広. 特発性好酸球増多空洞陰影を呈したウエステルマン肺吸虫症の一例. *Clin. Parasitol.*, 23, 53-56, 2012.
- 22) 杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之, 山崎 浩, 川上 泰. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ冷凍条件の検討. *Clin. Parasitol.*, 23, 57-59, 2012.
- 23) 荒井俊夫, 赤尾信明, 常盤俊大, 熊谷 貴, 太田伸生, 日向 眞, 山口俊和, 柴田信光, 下 正宗, 中谷信一, 松田隆秀, 高井憲治, 鈴木 登, 山崎 浩. アニサキス症の 2 例 - *Pseudoteraanova azarasi* 幼虫感染例と糞便内に幼虫の排泄をみた例. *Clin. Parasitol.*, 23, 60-63, 2012.
- 24) 三木田馨, 前田卓哉, 藤倉雄二, 三沢和央, 河野修一, 原 悠, 叶宗一郎, 小野岳史, 宮平 靖, 山本哲久, 武藤麻紀, 山崎 浩, 川名明彦. 埼玉県で再び発生したアジア条虫症の一例と本邦での感染が強く疑われた無鉤条虫症の一例. *Clin. Parasitol.*, 23, 99-101, 2012.
- 25) 大前比呂思. 輸入寄生虫病, 日本獣医学会雑誌 65 : 101-105, 2012
- 26) 大前比呂思. 食品媒介寄生虫症 - 旅行医学における本症. 防菌防黴雑誌 40 : 649-656, 2012.
3. 書籍 (和文)
- 1) 山崎 浩. 感染症・免疫血清診断 (34) 抗寄生虫 IgG 抗体. 臨床検査ガイド 2013-2014. pp. 878-880, 文光堂, 東京. 2013 年 3 月.
- 2) 山崎 浩 (分担執筆). 食中毒予防必携 第 3 版. 蠕虫症. pp. 325-337, 340-348. 社団法人 日本食品衛生協会, 東京. 2013 年 1 月 31 日.
- 3) 大前比呂思. 住血吸虫症. 今日の治療指針, 医学書院, 265-266, 2013.
- II. 学会発表
1. 国際学会
- 1) Nozaki, T. Evolution of function and import machinery of the mitochondria under anaerobic conditions: Highly divergent mitochondrion-related organelles in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. Mito 21012, Heraklion, Greece, May 9-13, 2012.
- 2) Nozaki, T. Mitosomal transport system in *Entamoeba*

- histolytica*. Protist 2012, International Society of Evolutionary Protistology Meeting, Oslo, Norway, July 29-Aug 3, 2012.
- 3) Jeelani, G., Dan, S., Husain, A., Escueta-de Cadiz, Sugimoto, M., Soga, T., Suematsu, M., and Nozaki, T. Metabolome of encystation in *Entamoeba histolytica*. Metabolomics of Protozoan parasites. Glasgow, U.K., Sep 10-14, 2012.
- 4) Chiba, Y., Dan, S., Makiuchi, T., Jeelani, G., Soga, T., and Nozaki, T. Organelle metabolomics of *Entamoeba histolytica*. Metabolomics of protozoan parasites. Glasgow, U.K., Sep 10-14, 2012.
- 5) Nozaki, T. Evolution of the mitochondria under anaerobic conditions: Function and import machinery of the highly divergent mitochondrion-related organelle in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Japan, Sep 11-14, 2012.
- 6) Nozaki, T., Nakada-Tsukui, K., Furukawa, A., and Marumo, K. A novel class of transporters that mediate lysosomal trafficking in *Entamoeba histolytica*. International Conference of Tropical Medicine and Malaria. Rio de Janeiro, Brazil, Sep 23-27, 2012.
- 7) Nozaki, T. Potential areas of collaboration on parasitic infections. e-ASIA JRP symposium, Japan Science and Technology Agency. Singapore, Dec 4-5, 2012.
- 8) Nozaki, T. Evolution of the mitochondria under anaerobic conditions: Function and import machinery of the highly divergent mitochondrion-related organelle in *Entamoeba histolytica*. Joint International Tropical Medicine Meeting. Bangkok, Thailand, Dec 12-14, 2012.
- 9) Hanadate, Y., Nozaki, T., Kobayashi, S. and Samie, A. Polymorphism of tRNA-linked short-tandem repeats (STR) of South African *Entamoeba histolytica* isolates. International Workshop on Enteric Protozoan Infection (supported by National Research Foundation, South Africa, and Japan Science and Technology Agency, Japan). Tokyo, Feb 22, 2013.
- 10) Das, K., Mukherjee, A., Kobayashi, S., Nozaki, T., and Ganguly, S. Genetic polymorphism of *Entamoeba histolytica* isolates in India. International Workshop on Enteric Protozoan Infection (supported by National Research Foundation, South Africa, and Japan Science and Technology Agency, Japan). Tokyo, Feb 22, 2013.
- 11) Nakada-Tsukui, K., Sekizuka, T., Makoto, K., Sato, E., and Nozaki, T. Genomic features of *Entamoeba histolytica* Japanese clinical isolates. International Workshop on Enteric Protozoan Infection (supported by National Research Foundation, South Africa, and Japan Science and Technology Agency, Japan). Tokyo, Feb 22, 2013.
- 12) Nozaki, T. A novel beta barrel transporter in the mitosome of *Entamoeba histolytica*. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.
- 13) Nakada-Tsukui, K., Tomii, K., Marumo, K., Sato, E., Takashima, E., Shiba, T., Horton, P., Tsuboi, T., Harada, S., and Nozaki, T. Unique lysosomal targeting system in *Entamoeba histolytica*. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.
- 14) Mori, M., Masuda, Y., Kasai, R., Masuma, R., Takahashi, Y., Nozaki, T., Shiomi, K., Omura, S. Inhibitors of *Entamoeba histolytica* cysteine synthase and serine acetyltransferase discovered from secondary metabolites of microorganisms. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.
- 15) Saito-Nakano, Y., Okada, M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, N., and Nozaki, T. Role of Arf GTPase and traffic to lysosomes in *Entamoeba* pathogenesis. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.
- 16) Samie, A., Mahlaule, L., Mbatia, P., and Nozaki, T. Molecular detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* from HIV positive and HIV negative patients in the Limpopo province, South Africa. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.
- 17) Nagamune, K., Andrabi, S.B.A., Matsubara, R. Apicomplexan parasites and plant hormones. Protist 2012, Oslo, July 2012.

- 18) Nagamune, K., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Aonuma, H., Kinoshita, T. The effect of host GPI to *Toxoplasma gondii* infection. Molecular Parasitology Meeting XXIII, Woods Hole, MA, USA, September 2012
- 19) Fkshi, M., Aonuma, H., Matsubara, R., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Nagamune, K. The acidic organelle in extracellular *Toxoplasma gondii*. Molecular Parasitology Meeting XXIII, Woods Hole, MA, USA, September 2012
- 20) Sugiyama H. Current status of paragonimiasis in Japan: Infections associated with exotic eating habits. The 7th seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses (Symposium). December 13-14, 2012, Bangkok, Thailand.
- 21) Yamasaki H., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H. Current status and perspectives of food-borne cestodiasis in Japan. International Workshop on “Emerging parasitic zoonoses: epidemiology, diagnosis and prevention. June 25-26, 2012, Hanoi, Vietnam.
- 22) Yamasaki H., Muto M., Kuramochi T., Mercado R. Genetic polymorphisms of *Diphylobothrium* species found in fishes from Lake Llanquihue, southern Chile. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, and XLVIII Congress of the Brazilian Society of Tropical Medicine. September 23-27, 2012, Rio de Janeiro, Brazil.
- 23) Yamasaki H., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H., Okamoto M. Outbreak of *Taenia asiatica* infection in Japan. International Symposium on Cestode Zoonoses Control. October 29-30, 2012, Shanghai, China.
- 24) Asahi, H., *Plasmodium falciparum*: Intra-erythrocytic growth in serum-free medium with an emphasis on growth-promoting factors. 8th Annual BioMalPar | EVIMalaR Conference Biology and Pathology of the Malaria Parasite, in Heidelberg, Germany, May 2012.
- 25) Asahi, H., *Plasmodium falciparum*: Developmental regulation on the early intra-erythrocytic stage by lipid growth-promoting factor via copper homeostasis. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria (ICTMM), in Rio de Janeiro, Brazil, September 2012.
- 26) Saito-Nakano, Y., Okada, M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, N., and Nozaki, T. Role of Arf GTPase and traffic of lysosome in *Entamoeba histolytica* pathogenesis. XXVII Seminar on Amoebiasis, Merida, Mexico. Feb 28- Mar 4, 2013.
- 27) Ohmae H, Morishima Y, Yamasaki H, Kironoki M, Chigusa H. Screening and monitoring of helminthiasis in Japan – a comparison of schistosomiasis and echinococcosis – 12th International Workshop of Regional Network Asian Schistosomiasis, +October 2012, Hanoi, Vietnam
- 国内学会, サイエンスカフェ
- 2.
- 1) 野崎智義 寄生生物ミトコンドリアの特性～嫌気環境下における多様化. J-mit, “Mitochondrial Diversity: shall we find out her multiple faces” (日本ミトコンドリア学会), Tsukuba, Ibaraki, Dec 19-21, 2012.
- 2) 永宗喜三郎、あなたの知らない寄生虫のセカイ ～トキソ、マラリア、マトリョーシカ～、第 63 回バイオ e カフェ 2012 年 9 月、つくば
- 3) 松原立真、永宗喜三郎、アピコンプレクサ生物の植物ホルモンとその生理機能、第 45 回日本原生動物学会大会 2012 年 11 月、兵庫県姫路市
- 4) 永宗喜三郎、福土路花、アピコンプレクサ生物の滑走運動とカルシウム・シグナリング、第 45 回日本原生動物学会大会 2012 年 11 月、兵庫県姫路市
- 5) 永宗喜三郎、トキソプラズマ、希少感染症診断技術研修会、2013 年 2 月、東京
- 6) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、トキソプラズマ感染における宿主細胞膜マイクロドメインの役割、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京
- 7) 永宗喜三郎、喜屋武向子、山本徳栄、山野安規徳、Asis Khan, L. David Sibley、本邦におけるトキソプラズマ分離株の分子タイピング、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京

- 8) 八木田健司、内田雄治、国産重種馬における *Sarcocystis fayeri* 汚染実態調査、第 82 回日本寄生虫学会大会、2013 年 3 月、東京
- 9) 泉山信司、岸田直裕、岸田小百合、秋葉道宏、八木田健司、クリプトスポリジウムとジアルジア計数を目的とした定量逆転写PCRの検量線作成、第 82 回日本寄生虫学会大会、2013 年 3 月、東京
- 10) 八木田健司、国内と畜馬肉および輸入馬肉中における *Sarcocystis* 汚染実態調査、第 45 回原生動物学会大会、2012 年 11 月、兵庫
- 11) 三田村さやか、江口 洋、三田村佳典、八木田健司、*Colpoda* 属が検出された コンタクトレンズ関連角膜炎の 1 例、第 49 回日本眼感染症学会、2012 年 7 月、横浜
- 12) 八木田健司、原因不明食中毒と寄生虫、第 22 回感染症研究所シンポジウム、2012 年 5 月
- 13) 岸田直裕、吉本泰士、佐藤逸人、泉山信司、秋葉道宏、遠藤卓郎、クリプトスポリジウム検査における遺伝子検査法の作業性に関する検討、第 63 回全国水道研究発表会、2012 年 5 月、島根県松江市
- 14) 泉山信司、佐々木美江、東日本大震災における水道水の微生物学的安全性、第 12 回 環境技術学会年次大会、2012 年 9 月、滋賀県草津市
- 15) 勝山志乃、泉山信司、百田隆祥、岸田小百合、河川表流水における原虫類の遺伝子検査法と検鏡による従来法の比較、日本水処理生物学会第 49 回大会、2012 年 11 月、東京
- 16) 永宗喜三郎、アピコンプレクス門原虫が産生する植物ホルモンの意義、第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会、2012 年 7 月、東京
- 17) 福士路花、青沼宏佳、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎、細胞外トキソプラズマにおける未知の酸性オルガネラについて、第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会、2012 年 7 月、東京
- 18) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響、第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会、2012 年 7 月、東京
- 19) 福士路花、青沼宏佳、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎、細胞外トキソプラズマにおける未知の酸性オルガネラについて、第 20 回分子寄生虫学ワークショップ 2012 年 8 月、神戸
- 20) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主マイクロドメインがトキソプラズマ感染に及ぼす影響、第 20 回分子寄生虫学ワークショップ 2012 年 8 月、神戸
- 21) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主細胞膜マイクロドメインがトキソプラズマ感染に与える影響、第 72 回日本寄生虫学会東日本支部会・第 10 回分子寄生虫学・マラリアフォーラム合同大会 2012 年 10 月、前橋
- 22) 松原立真、永宗喜三郎、マラリア原虫が持つ植物ホルモンの網羅的検出と機能解析、第 1 回日本細胞共生学会若手の会 2012 年 11 月、下田
- 23) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主細胞膜マイクロドメインがトキソプラズマ感染に及ぼす影響、第 1 回日本細胞共生学会若手の会 2012 年 11 月、下田
- 24) 松原立真、川原史也、小嶋美紀子、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、福士路花、山野安規徳、榊原均、永宗喜三郎、マラリア原虫における植物ホルモンの網羅的検出と機能解析、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京
- 25) 山本徳栄、近 真理奈、増田純一郎、小山雅也、斉藤利和、Asis Khan, L. David Sibley、森嶋康之、山野安規徳、永宗喜三郎、埼玉県ネコにおける *Toxoplasma gondii* の保有状況調査、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京
- 26) 福士路花、青沼宏佳、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎、細胞外トキソプラズマ特異的なイオン貯蔵オルガネラ、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京
- 27) 杉山 広、柴田勝優、森嶋康之、山崎 浩、川上 泰. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ冷凍条件の検討. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日、東京.
- 28) 佐藤 亮、三角裕生、上見葉子、下川恒生、檜田直也、岡本浩明、加志崎史大、石井真理、相佐好伸、神谷一徳、吉津 晃、吉田幸子、武藤麻紀、山崎 浩、杉山 広. 特発性好酸球増多症候群としてステロイド



- 投与中に両肺多発空洞陰影を呈したウェステルマン肺吸虫症の一例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.
- 29) 杉山 広. 食習慣を背景に発生する我が国の寄生虫性食中毒: 実態と対応. 静岡県寄生虫症研究会. 第 17 回研究総会特別講演. 2012 年 9 月 8 日, 浜松.
- 30) 杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 武藤麻紀, 森嶋康之, 山崎 浩. 静岡県島田市川根町に分布するサワガニの肺吸虫寄生状況調査. 第 155 回日本獣医学会学術集会・日本獣医寄生虫学会. 2013 年 3 月 28-30 日, 東京.
- 31) 杉山 広, 柴田勝優, 坂西梓里, 川上 泰, 武藤麻紀, 大前比呂思, 森嶋康之, 山崎 浩. ゴマサバを対象としたアニサキス同胞種の寄生状況調査. 第 82 回日本寄生虫学会大会. 2013 年 3 月 28-31 日, 東京.
- 32) 藤森俊二, 武藤麻紀, 山崎 浩, 坂本長逸. カプセル内視鏡で遭遇した小腸寄生虫の 2 例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.
- 33) 物部寛子, 野村 務, 出月健夫, 郡司真理子, 堀内啓, 森嶋康之, 武藤麻紀, 杉山 広, 山崎 浩. *Dirofilaria repens* 感染による皮下結節例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.
- 34) 荒井俊夫, 赤尾信明, 常盤俊大, 熊谷 貴, 太田伸生, 日向 眞, 山口俊和, 柴田信光, 下 正宗, 中谷信一, 松田隆秀, 高井憲治, 鈴木 登, 山崎 浩. アニサキス症の 2 例 — *Pseudoterranova azarasi* 幼虫感染例と糞便内に幼虫の排泄をみた例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.
- 35) 三木田馨, 前田卓哉, 藤倉雄二, 三沢和央, 河野修一, 原 悠, 叶宗一郎, 小野岳史, 宮平 靖, 山本哲久, 武藤麻紀, 山崎 浩, 川名明彦. 埼玉県で再び発生したアジア条虫症の一例と本邦での感染が強く疑われた無鉤条虫症の一例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.
- 36) 高宮信三郎, 橋本宗明, 藤村 務, 上野 隆, 山崎 浩. 自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* の F58B4.2 は偽遺伝子化した回虫分泌型シトクロム  $b_5$  のホモログである. 第 6 回蠕虫研究会. 2012 年 7 月 27-28 日, 宮崎.
- 37) 高宮信三郎, 橋本宗明, 藤村 務, 上野 隆, 山崎 浩. 自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* およびブタ回虫 *Ascaris suum* のシトクロム  $b_5$  (様) 蛋白の比較解析: *C. elegans* F58B4.2 は回虫分泌型シトクロム  $b_5$  の偽遺伝子化したホモログである. 第 72 回日本寄生虫学会東日本支部大会. 2012 年 10 月 13 日, 前橋市.
- 38) Yamasaki H., Nakamura T., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H., Intapan P.M., Maleewong W., Matsuoka H., Kobayashi K., Takayama K., Kobayashi K. Development of a simple and rapid diagnostic kit to detect antibodies in human sparganosis. 第 82 回日本寄生虫学会大会, 2013 年 3 月 29-31 日, 東京.
- 39) 吉田彩子, 辻 尚利, 山崎 浩, 丸山治彦. 組換えタンパク質抗原を用いたブタ回虫症とトキソカラ症の血清診断. 第 82 回日本寄生虫学会大会, 2013 年 3 月 29-31 日, 東京.
- 40) Kwansa-Bentum, B., Asahi, H., Izumiyama, S., Ohta, N., Comparative studies of serum-free media and detection techniques for *in vitro* drug sensitivity assessment of *Plasmodium falciparum*. 第 82 回日本寄生虫学会大会、東京、2013 年 3 月
- 41) 海老根一生, 平井誠, 中野由美子 *Plasmodium* の ARA6 様遺伝子, Rab5b の機能解析 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 September 14-16, 2012
- 42) 海老根一生 植物固有の膜融合制御因子の解析 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 September 14-16, 2012
- 43) 恵良厚子, 海老根一生, 石崎公庸, 河内孝之, 中野明彦, 上田貴志 陸上植物における ARA6 の機能の多様性 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 September 14-16, 2012
- 44) 花館有希, 津久井久美子, 野崎智義, 中野由美子 (2012) 赤痢アメーバの貪食の特異性に関する Rab の機能解析. 第 20 回分子寄生虫学ワークショップ. 2012 年 8 月 26 日-29 日. 神戸
- 45) 中野由美子, 中曾根英子, 美田敏宏 (2013) アーカイブ血液スメア標本による熱帯熱マラリア原虫 Sulfadoxine/Pyrimethamine 耐性遺伝子型の同定. Genetic identification of *dhfr/dhps* genotypes in *Plasmodium falciparum* using archive blood smears 第 82 回 日本寄生虫学会大会. 2013 年 3 月

28日-31日．東京

- 46) 桐木雅史、林尚子、Muth Sinuon, Duong Socheat, Cahr Meng Chour, 大前比呂思、千種雄一、松田肇 (2013) メコン住血吸虫の中間宿主および保虫宿主に関する基礎調査 第82回 日本寄生虫学会大会. 2013年3月28日-31日. 東京
- 47) 大前比呂思、杉山広、山崎浩、Muth Sinuon, Duong Socheat (2013) 日本における抗寄生蠕虫薬の使用状況とその問題点 -国際的潮流との比較- 第82回日本寄生虫学会大会. 2013年3月28日-31日. 東京
- 48) 林尚子、菊池未穂子、Muth Sinuon, Duong Socheat, Cahr Meng Chour, 大前比呂思、春木宏介、千種雄一 (2013) 尿中の住血吸虫遊離型DNAを標的とした活動性感染の検出. 2013年3月28日-31日. 東京