

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などの腸管寄生性の原虫、トキソプラズマ、マラリア原虫などのアピコンプレクス類原虫、アカントアメーバ等自由生活性アメーバを含む単細胞真核生物である原生生物による感染症と、アニサキス、トキソカラ、肺吸虫、条虫など多細胞真核生物である蠕虫による感染症が挙げられる。これら寄生虫感染症の検査・診断法の開発・評価、治療法の創成に繋がる基盤的な研究や国内外の現況把握のために、疫学・分子疫学調査を継続的に行った。また、これらの寄生虫症に関する依頼検査、レファレンス業務、研修、国際協力活動を行った。

第一室では、腸管原虫症、特に赤痢アメーバ症・ジアルジア症・クリプトスポリジウム症・サルコシスチス症の診断法開発や疫学・分子疫学研究を行った。また、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）、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調査を進めた。さらに、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体については、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、診断のサポートを行った。

第三室ではマラリアやシャーガス病など、海外からの流入が問題とされる寄生虫症の病原・免疫機構に関する基礎的研究や診断・対策に関わる応用研究、寄生原虫の薬剤耐性に関する研究を実施している。特に、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進めた。また、これらの寄生虫症の診断や治療に関する相談にあたりとともに、熱帯地域を中心として問題となっている外来寄生虫症防疫のため、国内連携の強化と、国際連携の強化を積極的に行っている。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。

部長室では、原虫と蠕虫に対する宿主応答の研究を行なっている。特に、マラリアの最大の死因である脳マラリアの病態の解析に関わる免疫系の関与、腸管寄生性蠕虫の免疫回避機構およびそれに派生する宿主免疫応答抑制のメカニズムに関して精力的に解明を進めている。

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、再任用職員として杉山広、客員研究員として山崎浩、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、野崎智義、協力研究員として渡辺恒二、柳川泰昭、川原史也、下河原理江子、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、黒滝大翼、Ghulam Jeelani、Herbert Santos、Koushik Das、脇本優司、小林正規、吉田奈穂子、川合覚、岡本宗裕、流動研究員として花館有希、研究生・実習生として、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、多久和泉、Sanjib Kumar Sardar、川瀬航、Akanta Ghosal が在籍し、研究等に従事した。更にインドネシアボゴール大学霊長類センターから Huda Shalahudin Darusman と Suryo Saputro が客員研究員として3週間共同研究に従事した。非常勤職員として、伊藤薫平、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) 抗赤痢アメーバ抗体を用いた免疫学的検査法

抗原検出による赤痢アメーバ検査法の開発を進めている。ELISA による解析から、抗赤痢アメーバポリクロナル抗体を固相および検出抗体の両方に用いた条件が良好な結果を示した、AIDS 関連下痢症例の糞便試料(PCR で赤痢アメーバ陽性 12 例、陰性 16 例)について、感度 75%、特異性は 100%であった。なお、顕微鏡検査で栄養体あるいはシスト陽性であった 9 試料は、ELISA 陽性率 88.9% (8/9)、また PCR 陽性で市販抗原検出キットでは陰性の 7 試料は、ELISA ではその 57.1% (4/7) が陽性であった。本検出系では原虫を認める有症例についてはその抗原検出能力が期待できるものと考えられた。

[八木田健司: 渡辺恒二(国立国際医療研究センター)]

(2) 抗バラムチア抗体の開発とその利用

バラムチア脳炎検査法開発を目的に、抗バラムチア抗体(Poly)を作成した。アカントアメーバおよびネグレリアで吸収処理を行いバラムチア特異性を向上させた。精製した抗バラムチア IgG はアメーバ性脳炎の基本的検査法である免疫組織学的検査に有用であることを確認した。またこの抗体を用いたウェスタンブロットで、バラムチア脳炎患者血清中にバラムチアに由来すると考えられる複数のタンパク質を検出した。感染に関連するバイオマーカーとして、迅速検査法への応用を進めている。抗バラムチア抗体は市販品がないので、国内でのアメーバ性脳炎検査普及のため臨床現場での利用拡大を進めている。

[八木田健司、花館有希]

(3) アメーバ性脳炎のスクリーニング的遺伝子検査法

国内におけるアメーバ性脳炎発生病動向を調査している中で、その原因とされるバラムチア、アカントアメーバおよびネグレリア以外の自由生活性アメーバの感染が疑われる例が近年発生している。ヒトに対する感染性は、これらのアメーバを含め 5 つの属に潜在的にあると考えられることから、これらのアメーバ類を幅広く検出可能な遺伝子検査法を開発した。共通プライマーによる 18SrRNA 遺伝子の部分増幅において、産物のサ

イズあるいは塩基配列でアメーバを特定する。本法をスクリーニング的に利用することで、アメーバの有無の判断、また属レベルでの同定が迅速に実施可能になるものと期待できる。

[八木田健司]

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

臨床症状が類似する幼虫移行症 3 疾患(顎口虫症・トキソカラ症・孤虫症)を同時に鑑別診断できるイムノクロマト法を応用した point-of-care 目的とした test 複合型検査キットの改良、評価を行った。幼虫移行症複合検査キットはいずれの疾患とも感度・特異度は良好で(トキソカラ症:感度 87.5%・特異度 93.1%、マンソン孤虫症:感度 100%・特異度 97.1%、顎口虫症:感度 85.7%・特異度 97.9%)、point-care-of-testing の tool としての有用性が示された。今後、製品化に向けた品質管理や保管条件検討の課題が残された。他の希少寄生虫症(肝蛭症・有鉤囊虫症)の検査キットの開発も行った。抗原の種類(レコンビナントかネイティブ)や種々の二次抗体の種類などを比較した結果、いずれの疾患ともネイティブ抗原を用いたキットが感度・特異性とも優れていたが、今後さらなる改良が必要と考えられた。

[山崎浩、森嶋康之、杉山広: 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。さらに虫体の変性、あるいは石灰化した場合には、寄生虫の形態的特徴が失われ、同定・鑑別は一層困難となる。そこで、遺伝子解析に基づき寄生虫種を同定・鑑別する方法が最も正確であるために、臨床検体を研究材料として、網羅的な遺伝子鑑別法の確立も目的として実施してきた。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、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、本虫の感染性を消失させる加熱条件について、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。厚労省が野生鳥獣の加熱に求める条件 (75°C で 1 分以上) ならびに、それと同等とされる 70°C で 3 分、65°C で 15 分、さらに厚労省の条件を上回る 75°C で 2 分の 4 条件を加熱条件として選択し、旋毛虫 T9 の幼虫を処理した。この処理虫体をマウスに投与し、約 50 日後に剖検して、虫体の寄生状態を調べた。その結果、70°C で 3 分および 65°C で 15 分の加熱で、本虫のマウスへの感染性は消失した。しかし 75°C で 1 分 (および 2 分) の加熱では、本虫のマウスへの感染性が完全には消失しなかった。旋毛虫食中毒の予防に関して、厚労省が示す加熱条件を再検討する必要があると思われた。[杉山広、森嶋康之: 村上正樹、常盤俊大 (日獣大)]

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) 全国の水道原水と一部の下水処理水におけるクリプトスポリジウム、ジアルジアの検出状況

国内のクリプトスポリジウムとジアルジアの汚染状況を理解するため、全国の水道原水における検出報告の確認と、一部の下水処理水の検査を行った。水道原水は、飲料水健康危機管理実施要領に基づき報告された平成 20~30 年 (2008~2018) の検出を、地図上にプロットした。水道原水から年 50 件ほどの汚染が報告され、11 年間にクリプトスポリジウムは 618 件、ジアルジアは 573 件あった。うち、被圧地下水からの検出が 7 件あり、深井戸であっても汚染が報告されていた。地図上では関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。下水処理水は兵庫県内の下水道事業者の協力を得て、2018 年から 2019 年の期間に、計 22 箇所から 137 試料を検査した。浅井戸の水を塩素処理だけで給水している 1 地域と、深井戸から取水し塩素処理だけで給水している 1 地域の、下水処理水 3 試料

からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジアは、浄水処理や地域に関係なく、32 試料と多数であった。対象地域内ではこの期間に患者届出がなかった。一定の条件が満たされれば、下水の検査はその地域の感染状況を把握できる方法として、有用と考えられた。

[井上亘 (兵庫県立健康科学研究所)、橋本温 (県立広島大学)、鎌田智子 (神奈川県内広域水道企業団)、古川紗耶香 (青森市企業局)、田部井由紀子 (東京都健康安全研究センター)、黒木俊郎 (岡山理科大学)、中嶋直樹 (神奈川県衛生研究所)、泉山信司]

(2) アメーバ赤痢発生動向と赤痢アメーバ抗体検査

2017 年末、赤痢アメーバ抗体の保険適用検査終了以後、アメーバ赤痢の届出数が減少している。この数年で最も届出数が多かった 2016 年に対し、2019 年総届出数も 26.7% の減少、腸管外アメーバ症も 54.5% の減少で、減少に転じた 2018 年と状況はほぼ変わらなかった。政府の人口動態統計によると、アメーバ赤痢による年間死亡者数は 2017 および 2018 年はそれぞれ 5 人、4 人であった。2008 年以後年間 3~7 人の死亡者数であることを考えると、抗体検査終了が死亡者数変動に影響を及ぼしている状況にはないが、適切なアメーバ赤痢治療に支障をきたす可能性は残り、検査体制の整備等対策が施される必要がある。

[八木田健司]

(3) アメーバ性肝膿瘍症例における抗赤痢アメーバ IgG 検査の有用性

アメーバ赤痢の IgG 検査は、他の感染症と同様、診断上の有用性の低さが指摘されるが、重篤化のリスクが高いアメーバ性肝膿瘍では、病原体あるいは遺伝子検査ができず、臨床症状と画像そして血清抗体で診断を下さざるを得ない場合が多い。今回依頼検査のアメーバ性肝膿瘍 28 例について、膿瘍検体の PCR と抗赤痢アメーバ IgG 検査成績を解析したところ、PCR に対し抗体は感度 99.4%、特異性 90% であった。PCR が実証するアメーバ感染を抗赤痢アメーバ IgG はよく反映している結果と考えられた。アメーバ性肝膿瘍症例では適切な治療に結び付けるために、抗赤痢アメーバ IgG 検査の活用を図ることが重要と考えられる。

[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

抗原検出キットを用いたアメーバ赤痢の検査法評価に関する研究の一環で、対象となる臨床検体中の赤痢アメーバ PCR 検査を行った。方法は糞便検体より市販 DNA 抽出キットを用いて DNA 試料を調製し、18S ribosomal RNA 遺伝子を標的とした赤痢アメーバ特異的定性 PCR とした。研究参加 5 施設から得た総数 674 検体に対し、赤痢アメーバ PCR 陽性は 41 検体で、陽性率は 6.1% であった。陽性率は参加施設により 0%~12.5% と幅があったが、これは各施設の検体数の違いによるものと考えられた。PCR 陽性 41 検体中、鏡検でのアメーバ陽性率は 65.9% であり PCR 検査の有用性が認められた。
[八木田健司、下河原理江子・渡辺恒二(国立国際医療研究センター)]

(5) AIDS 関連下痢症例におけるジアルジアおよびクリプトスポリジウムの感染調査

これまでに開発したジアルジアならびにクリプトスポリジウムを同時に抗原検出できるイムノクロマト(G/C dual kit)を用いて、AIDS 関連下痢症検体 222 例における両原虫の感染調査を行った。結果はジアルジア 4 例陽性(陽性率 1.8%)で、陽性試料は免疫抗体法でシスト陽性であった。一方クリプトスポリジウムは 5 例陽性(陽性率 2.3)であった。これらの陽性試料は免疫抗体法でオーシストを確認できなかったが、市販抗原検出キットおよび PCR により 4 例はクリプトスポリジウム陽性と考えられた。両原虫の感染は国内においては希少で、ハイリスクグループの HIV 陽性者でもその感染は稀であることが本調査でも示された。
[八木田健司]

(6) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 岐阜県ネコ由来クローンの解析

最近岐阜県のネコから分離したトキソプラズマ株(以下岐阜分離株)は欧米で非病原性型として知られる III 型に分類されるにも関わらずマウスにおいて病原性を示した(Taniguchi *et al.* 2018)。これは岐阜分離株が欧米の非病原性株にはない病原性因子を持っていることを示唆している。岐阜分離株の全ゲノムシーケンス解析を行ったところ、トキソプラズマの病原性決定因子である ROP16,17,18 遺伝子については他の III 型株と全く同じ塩基配列を持っていたが、病原性決定因子の一つである ROP5 は多重遺伝子であり illumina を用いたショ

ートリードによるシーケンス解析では十分な解析が行えなかった。そこで多重遺伝子により構成される遺伝子について詳細を明らかにするため、nanopore を用いたロングリードシーケンス解析を行い、ショートリードデータとロングリードデータの両方を用いたアセンブリによって再度全ゲノムシーケンスの構築を行った。その結果、ROP5 遺伝子の正確なコピー数および配列が明らかとなり、岐阜分離株は非病原性株とよく似た配列の ROP5 遺伝子のみを持っていることが明らかとなった。現在 ROP5 遺伝子以外の多コピーかつ病原性への関与が示唆されている遺伝子についても同様の解析を行っている。

[高島康弘(岐阜大学)、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

トキソプラズマは非常にクローナルな生物であり、世界中で 16 の遺伝型(ハプロタイプ)の存在が知られており、またハプロタイプと地理的分布や病原性が非常に相関していることも報告されている。我々は最近、日本のトキソプラズマは世界の他の地域とは異なる独自の進化を遂げている可能性を見出した。そこで日本由来トキソプラズマを多数分離して全ゲノム配列を決定、さらに病原性を調べることにより、日本におけるトキソプラズマの特異性の調査を試みている。今年度は沖縄のネコから新たに 3 クローンのトキソプラズマの分離に成功した。さらに昨年度に分離後、解析を持ち越していた 3 クローンと合わせて計 6 クローンの全ゲノムの解読に成功した。これらの情報に昨年度までに全ゲノムの解読に成功していた 6 クローンを加え、計 12 クローンの日本分離株の情報を、トキソプラズマデータベースに登録されている全世界の 64 クローンのゲノム情報と比較したところ、日本分離クローンは欧米の無毒株とゲノムレベルで区別のできないもの(ただし欧米株とは違い、マウスに対する病原性は有している)と、日本独自の 3 タイプの計 4 タイプに大別できた。現在、これらの遺伝型とマウスやブタに対する病原性との関係についてより詳細に検討中である。

[福本隼平(筑波大学)、松崎素道、永宗喜三郎]

2. 蟻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:ニシンにおける虫体の寄生状況

我々は寒海域の魚種におけるアニサキスの寄生状況を継続的に調べてきたが、今年度はニシンを対象とした。各魚体の筋肉と内臓におけるアニサキス虫体の寄生状況を調査し、そ

の結果を整理して、検出された虫体を分子同定した。ニシンは北海道産を計 34 尾検査した。その結果、30 尾(88%)の内臓からアニサキス幼虫が検出された。検出虫体数は 1 尾当たり 1~50 隻(平均 8.7 隻)であった。このうちの 8 尾(全体の 24%)は、筋肉にも各 1 隻ずつ虫体が寄生していた。しかも検出虫体はほとんど人体感染種の *Anisakis simplex sensu stricto* (狭義の *Anisakis simplex*) と同定された。ニシンの生食はアニサキス食中毒八席の危険を伴うことが、わが国でも証明できた。[杉山広、森嶋康之]

(2) 本州以南におけるエキノコックス流行調査

ア. 愛知県における流行調査

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。2019 年度の陽性検出は 1 市から 2 例のみであったが、当該地域からは陽性例が継続して検出されており、確実に定着しているものと考えられた。

[森嶋康之、杉山広、山崎浩:八木欣平(北海道立衛生研究所)、塚田英晴(麻布大学)]

イ. 愛知県以外の本州都府県における流行調査

愛知県知多半島におけるエキノコックス症の定着は野犬を終宿主とする想定外のものであった。このこと踏まえ、現流行地である北海道および愛知県との地理的距離ならびに自治体を対象としたアンケート調査結果(野犬発生実態)に基づき、青森県および三重県の動物管理関係事業所と共同で抑留または保護されるイヌを対象とした調査を開始した。

[森嶋康之、杉山広、久枝一]

(3) 南米に分布する肝臓寄生の吸虫に関する検討

ア. *Amphimerus* 属肝吸虫による淡水魚の汚染状況調査

後睾吸虫科 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。そこで本症の流行地で 30 種類を超える淡水魚を検査し、本虫のメタセルカリアの検出を試みた。その結果、現地で *Ancha* と呼ばれる小魚の寄生率が高く、陽性魚 1 尾あたりのメ

タセルカリア寄生数も多いことを明らかにした。しかもこの小魚を用いた料理「コルティエユ(内臓と頭部を除去してライム汁に一晩漬け込む)」が、感染源として重要であることも明らかになった。この小魚は陽性集落の周囲を流れる支流を好んで生息し、当該河川からは今後、本虫の第 1 中間宿主貝も検出されることが期待された。[杉山広、森嶋康之:高木秀和(愛知医大)、マヌエル・カルボピーナ(アメリカ大・エクアドル)]

イ. *Amphimerus* 属肝吸虫と異形吸虫との鑑別法の確立

Amphimerus 属肝吸虫症の流行地の魚からは、肝吸虫と形態が酷似する異形吸虫類の *Haplorchis pumilio* のメタセルカリアも検出された。そこでメタセルカリアで両種を鑑別するための PCR-RFLP 法を開発した。現在、種特異プライマーを用いたワンステップ PCR 法を開発中である。

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

ウ. エクアドルの肝蛭に関する分子生物学的研究

人獣共通感染症である肝蛭症の原因種は、エクアドルでは *Fasciola hepatica* (Fh) であることを分子学的に明らかにした。さらにエクアドルの Fh 虫体と、ヨーロッパおよび南米各国の Fh 虫体についてミトコンドリアの *nad1* 遺伝子の塩基配列を解読し、それらを分子系統学的に解析した。その結果、エクアドルを含む南米の Fh とヨーロッパの Fh は遺伝学的に近縁な集団であることが分かった。南米の Fh はヨーロッパの植民地時代に家畜とともに持ち込まれ、それが定着した集団であると推察された。[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)、高木秀和(愛知医大)、杉山広]

III. 分類・同定・臨床

1. バラムチアによるアメーバ性脳炎の感染マウスモデル

バラムチアによるアメーバ脳炎の病態解析を目的に、バラムチアの経鼻感染マウスモデルを作成した。正常マウス(C57BL/6J)にバラムチアを経鼻的に感染させ、2ヶ月間各週採血と経過観察を行った。感染区のマウスには痙攣、転倒および突発的な行動など中枢感染を示唆する行動異常は見られなかったが、試験した3匹中1匹が、感染後4週目から明確な抗バラムチア IgG 増加を示し、ピークは感染前の5倍に達した。バラムチアにおいて経鼻感染が成立し、慢性的に進行する可能性があることが示された。マウスは安楽殺後、脳、肺、

肝臓、腎臓等臓器を摘出し、免疫染色を含む顕微鏡観察ならびに PCR 検査による病態解析を進めている。

[花館有希、八木田健司]

2. 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単離株の樹立に成功した。令和元年度に立ち上げた腸アメーバ症由来の赤痢アメーバの無菌培養株3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、腸アメーバ症由来株で肝膿瘍形成を認め、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]

3. 続発するクマ肉喫食が原因の旋毛虫集団食中毒事例

北海道において、クマ肉の喫食を契機に発疹や筋肉痛等の症状が発現した集団感染事例が、2019年12月に発生した。2グループの合計10名が、同年11月に札幌市のイタリア料理店でクマ肉を喫食し、このうちの8名が発症した。患者が喫食したクマ肉は4年前に北海道で狩猟されたクマに由来し、4年間冷凍保存され(冷凍条件の詳細は不明)、患者に提供される直前に、当該料理店に委譲されていた。しかし残品は保管されておらず、旋毛虫食中毒との判定は、血清学的検査の結果に基づいて行われた。クマ肉の喫食による旋毛虫を原因とした集団食中毒事例は、2016年12月に茨城県で、また2018年に北海道で発生しており、本食中毒の発生予防に関する啓発活動を、継続的に展開する必要がある。[森嶋康之、杉山広:児玉文宏(札幌市立札幌病院)]

IV. 生理・生化学・分子生物学

1. 原虫の病原機構・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

態と比較しづらいことから、その整備を行っている。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、35 染色体相当(推定)にまで配列をつなぐことができている。この配列を基準として、患者分離株から取得したリードのマッピングを行い、染色体本数に変動が生じる不安定なゲノムであることが判明した。Variant Detection を行い、アレルの存在割合から、4N の Ploidy であることが推察された。日本国内の臨床単離株 NA22 株について、同様の解析を行い、国内分離株の基準配列を用意した。染色体相当の比較が可能となり、部分的な逆位を検知した。病原性株のゲノム構造を比較することで、各種遺伝子の同定や診断系に資する情報の提供が可能な段階に到達した。

[泉山信司:川野哲郎、野崎智義(東京大学)]

(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(2Fevol)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結果、その責任遺伝子候補として遺伝子 x を同定できた。現在 x にコードされているタンパク質の機能を解析するため、この遺伝子をノックアウトまたは過剰発現させ表現型を解析している。

[高木綾湖、松崎素道、永宗喜三郎]

イ. トキソプラズマの新規ミトコンドリア・リクルート因子の同定

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)が、我々は MAF1 以外の別の誘導因子として ROP39 を同定した。共焦点顕微鏡を用いて ROP39 の局在を観察したところ、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

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 原虫は試験管内での増殖能力やマウスに対する病原性が野生株に比べて有意に減少していたことから、ROP39 の宿主ミトコンドリアリクルート能は原虫の増殖および病原性の発現に重要であることが示唆された。

[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。この糖鎖に結合する分子を糖鎖を結合したビーズを用いて濃縮し、質量分析により同定したところ、Gal/GalNac 特異的レクチン170kDa サブユニットに高い相同性を示す分子を同定した。今後この分子と貪食の関係について解析を続ける。[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、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。また、貪食胞へは SNX1, SNX2 の順で動員された。SNX1 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貪食にも重要な機能を持つ Arp1/2 複合体の構成分子が同定された。以上より、赤痢アメーバの貪食において PI3P シグナルの下流で 2 種類の SNX が順番に動員され、先行する

SNX1は貪食胞形成初期に Arp1/2 複合体と PI3P との結合依存的に貪食胞へ、SNX2 は形成された貪食胞へ PI3P 依存的に動員され下流シグナルを送ると考えられた。

[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、CPBF2 遺伝子発現抑制株で有意な侵入効率の低下を認めた。CPBF2 は α -amylase の一つを特異的にリガンドとするが、このマトリゲル侵入活性は酵素輸送受容体としての機能とは独立した現象であった。さらに CPBF2 遺伝子発現抑制株の解析から、有意な運動能力の低下と細胞辺縁における F-actin 形成の低下が観察された。よって CPBF2 に細胞骨格を介した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。また、赤痢アメーバに見いだされている2種類の貪食過程、即ち死細胞を丸呑みするファゴサイトーシスと生細胞をちぎりながら取り込むトロゴサイトーシスでは、取り込まれた細胞の分解過程が異なることが予想されている。そこで分解機構に関与するオートファジーマーカー分子である Atg8 のそれぞれの取り込み過程における局在を検討した。すると Atg8 のファゴソームへの動員効率が有意に低いことが示された。両者での貪食効率やホスファチジルイノシトール 3-リン酸の動員効率は同様であった。よってファゴサイトーシスとトロゴサイトーシスに続く貪食胞成熟過程に、Atg8 が異なる方法で関与す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。東京大学との共同研究から新たな赤痢アメーバゲノムデータが整備され、これまで明らかにされてなかった染色体レベルでの理解が進んだ。そこで AIG1 ファミリータンパク質遺伝子を検索しなおし、ゲノム位置、発現量を検討した。これまで 27 遺伝子とされていた AIG1 ファミリータンパク質遺伝子は 68 遺伝子見いだされ、41 本と予測された染色体のうち 17 本に分散して存在した。17 番染色体に 16 遺伝子が見いだされた以外、各染色体には 1~8 遺伝子が存在した。病原性の異なる 3 株の RNA-seq データ解析より、栄養型で発現している遺伝子は 41 遺伝子存在した。しかし発現パターンに病原性との相関は見いだせなかった。よって特定の AIG1 ファミリータンパク質のゲノムへの存在が病原性と相関しているメカニズムには、転写されたタンパク質の機能以外にゲノム構造変化など、多様な因子を考慮する必要がある。

[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:小胞体から細胞表面に輸送される経路の解析

細胞外に分泌されるタンパク質には N 末端にシグナルペプチドが存在し、小胞体に組み込まれた後、小胞を介して細胞外に分泌される。しかし、シグナルペプチドが無くとも細胞外に分泌されるタンパク質は原虫や宿主細胞で複数報告されている。まず、赤痢アメーバの Rab8A GTPase の発現抑制によって、接着に関与する細胞表面タンパク質 TolA タンパク質の輸送が阻害されることを発見した。定常状態での TolA の局在を観察するために、内部のコイルドコイル領域に FLAG タグを挿入し、赤痢アメーバ形質転換株での局在観察を行ったところ、TolA の細胞内局在は、phagocytic cup であり、赤血球を捕獲した非常に初期の phagosome に局在していた。また、細胞辺縁の TolA の局在はファロイジンで染色される F-Actin と共局在していた。TolA は細胞表面にも検出されるのに関わらず、シグナルペプチドと膜貫通ドメインが存在しない。2番目のアミ

ノ酸がミリスチル化修飾を受けると予測されるグリシンであるため、このグリシン残基をアラニン置換することで、TolA の細胞辺縁への局在が阻害された。よって TolA はミリスチル化を受け、細胞辺縁への輸送に必要であることが分かった。

[中野由美子、中曽根英子]

キ. 薬剤耐性赤痢アメーバの迅速単離法の開発

抗原虫薬ミルテフォシンに対する耐性株の迅速単離に成功し、ミルテフォシン耐性の原因遺伝子変異を特定した。先ず、テトラサイクリン制御下で DNA 複製酵素変異型を 66 週間 (66wks 原虫集団) 強制発現させた。原虫株を全ゲノムリシークンシング・変異解析した結果、変異型酵素の発現期間と蓄積された変異数は正の相関を示した。次に、それぞれの原虫集団にミルテフォシン選択圧を負荷した結果、66wks 原虫集団から高い IC₅₀ を示す原虫株が出現し、クローン化に成功した。さらにミルテフォシン非存在下で長期培養後に感受性が戻らない、安定した耐性を保持する3クローンを得た。これら3クローンの全ゲノム解析を行い、全クローンに共通して検出された 16 遺伝子変異をミルテフォシン耐性の原因遺伝子変異候補とした。これらのうち、P4-ATPase (N417K 変異) に注目した。N417K 変異のアレルは 4N が想定されるゲノム中に 100%の割合で存在した。野生株に N417K を発現させると弱い耐性を与え、逆に耐性クローンに野生型 P4-ATPase を発現させると感受性が復帰した。以上の結果は、耐性の獲得には 4N の全アレルの置換が必要であることを示すとともに、薬剤耐性研究のための画期的ツールとして赤痢アメーバのミュテーター化に成功した報告となる。

[中野由美子:平井誠(順天堂大)、泉山信司:川野哲郎(東京大学)、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 の赤痢アメーバにおける標的的探索

将来的なアメーバ赤痢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 のヒトMRC-5細胞への選択毒性は4500倍であり、230倍であったメロニダゾールの選択毒性よりも20倍選択性に優れていた。ovalicinと似た構造を有するfumagillinは、methionine aminopeptidaseが標的であると

報告されている。そこで、赤痢アメーバでfumagilin耐性を与える変異型methionine aminopeptidaseを発現させると、赤痢アメーバ形質転換株はovalicin耐性になることを示した。よって、methionin aminopeptidaseは赤痢アメーバの創薬票的として有望である。

[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。これまでのところ、100mg/ kg body 4日間の連続投与では治療効果は得られておらず、投与期間ならびに投与方法の検討が必要だと思われた。

[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、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2種得た。1つは7アミノ酸から構成されるリポペプチド *ikoamide* であり、ヒト培養細胞と熱帯熱マラリア 3D7 との選択毒性は 71 倍であった。

[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展開している。これまでに我々は、宿主オートファジーのマーカー分子 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。また、その応答が従来の canonical なオートファジー応答とは異なることを、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明らかにした。現在、それらの情報を元に原虫側の応答分子の探索を *in silico* 解析により行い、PVM タグ付加原虫を用いて詳細な解析を予定している。これらの詳細な解析から、原虫と宿主の細胞内相互作用の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い、トランジェントな NG2 の発現誘導に成功した。現在、その陽性細胞の株化の樹立と最適な細胞株の選択を行っている。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

マラリア原虫の増殖は、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化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。現在、この新規推定ヒストンメチル化酵素のリコンビナントタンパク質の作製と酵素活性の測定を試みている。これらを明らかにすることで、マラリア原虫の休眠と増殖の制御を担う遺伝子の同定を試みる。また、核増殖動態を明確にするために核マーカ分子の選定を行い、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た。これらの実験系を用いて、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、更に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報告した。電子顕微鏡を用いた核などのオルガネラの 3 次元構築の結果、原虫の核増殖は発育期に応じて異なることが初めて明確となり、今後、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の解明に貢献する。

[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

全く新しい抗マラリア対策のため、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といったマルチアングルなアプローチにより、新規化合物による検討を実施した。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 5 種得ることができた。また全く新しい化合物を用いた実験から、抗マラリア原虫効果はないがマラリアの重症化を軽減できる可能性がある化合物が見出され、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。また霊長類を用いた *in vivo* による病態解明・重症化機構の実験にも着手し、良好な予備実験の結果が得られた。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へ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。マラリア原虫を含むアピコンプレクサ門原虫には、N 末端側がアシル化された特殊な Rab5b GTPase が存在する。PfRab5b 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ところ Arf1 と Rab1 GTPase を得た。Arf1, Rab1b は Rab5b と原虫の核周辺で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。また活性化型変異である Arf1^{Q71L} を発現させたところ、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輸送経路に関わっていることを示した。

[多久和泉: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 (東京大学)、中野由美子]

V. 免疫学的検討

1. 脳マラリアの病態形成に関わる宿主因子の探索

マラリアの死亡の原因の大部分は熱帯熱マラリアで見られる合併症の脳マラリアである。脳マラリアは感染のごく初期のマラリア原虫が少ない時期に発症することから、宿主の免疫応答も病態に関与していることが知られている。本研究では、脳マラリアの病態に関連する宿主因子を検討した。ウガンダで得た脳マラリア患者、軽症マラリア患者、健常者の血清サンプル中の 106 種の宿主タンパク質を、HQ-PLEX 法という蛍光ビーズとフローサイトメーターを用いる方法で網羅的に定量した。多くのタンパク質が感染により著しく増減していることがわかり、マラリアの炎症の強さが見て取れた。その中でも、脳マラリア患者血清中で増加し、軽症患者や健常者で変化しない 28 のタンパク質を同定した。これらのいずれもが、脳マラリア患者の治療後の血清中では元のレベルに戻ることも確認でき、重症化因子あるいは脳マラリアのバイオマーカー候補であることを見出した。

この中の1つであるミエロペルオキダーゼ (MPO) について、ヒトで得られた知見がマウスモデルでも見られるのか、また、

MPO が脳マラリアの病態形成に関わっているのについて検討を行った。C57BL/6 マウスに *Plasmodium berghei* ANKA(PbA)を感染させると感染後 10 日ほどで中枢神経症状を呈し死に至り、脳マラリアモデルとなる。感染マウスでは血清中に MPO が増加することを見出した。ついで、MPO 欠損マウスに PbA を感染させたところ、若干の生存期間の延長は認められたが、野生型マウスと同様に脳マラリアを起こすことが明らかとなった。以上の結果から、MPO は脳マラリアの発症にはほとんど関与しないが、良いバイオマーカーになりうることを示された。

[下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、案浦健、久枝一]

2. 腸管内寄生性蠕虫の宿主免疫変調効果の検討

腸管内寄生性蠕虫は、我々寄生虫学者の絶え間ぬ努力により、我が国を含め先進国で見られることはほとんどなくなった。一方で、衛生環境の向上による蠕虫感染症をはじめとする感染症との暴露の減少がアレルギー疾患などの炎症性疾患の増加の原因とする「衛生仮説」も広く認知されるようになってきた。中でも腸管内寄生性蠕虫は長期間に渡って無症候性感染を起こし、自らの生存のために宿主の排除機構を回避するため免疫を抑制することが知られており、衛生仮説の主役であることが想定されている。そこで、我々は腸管内寄生性蠕虫の炎症性疾患抑制効果をマウスモデルで検証することとした。

(1) 腸管内寄生性線虫 *Heligmosomoides polygyrus* の肥満抑制効果

Heligmosomoides polygyrus (Hp)はマウスの十二指腸に寄生する線虫で、症状を起こすことなく3ヶ月ほど寄生し続ける。近年、増加が著しい肥満は、脂肪組織での微小炎症が増悪因子であることが示され、炎症性疾患の一面を持つ。腸管寄生性蠕虫であるサナダムシが肥満を抑制することが知られているが、そのメカニズムは分かっていない。そこで、腸管寄生性蠕虫の肥満抑制効果およびそのメカニズムを検証するために高脂肪食を与えた肥満マウスに Hp を感染させた。

高脂肪食を2週間与えると、体重が20%ほど増加する。さらに2週間続けると、体重は増え続ける。一方、2週間時点で Hp を感染させると、体重の増加は全く見られなくなり、わずかに体重は減少した。Hp による体重抑制効果は、Hp の感染で食餌量の減少は認められないことから、摂取カロリーの減少ではなく消費カロリーの増加であることが示唆された。そこで脂

肪細胞の熱産生＝カロリー消費に必須であるミトコンドリアに存在する脱共役タンパク質 UCP1 の発現を解析した。高脂肪食を与えると、脂肪組織での UCP1 の発現が高くなり、肥満抑制方向に向かう。Hp を感染させると、その発現は著しく増強し、UCP1 発現増強が Hp の肥満抑制効果の正体であることが分かった。さらに UCP1 発現増強のメカニズムを検討したところ、Hp の感染では交感神経系が活性化しておりノルアドレナリンの血中濃度が高くなっていた。その大部分は神経源性であったが、一部が腸内細菌由来のものであることが明らかになった。以上のように、Hp が腸内細菌に作用してホルモン環境を変えることで肥満抑制に働いていることが示された。現在、さらなる検討として免疫系の作用の解析も続けている。

[下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、久枝一]

(2) Hp の自己免疫性糖尿病の抑制効果

Hp の免疫抑制効果の一環として、自己免疫性糖尿病の抑制効果も検討した。C57BL/c マウスにストレプトゾトシンを低容量頻回接種することで自己免疫性糖尿病を誘導できる。糖尿病誘導の前に Hp を感染させると、非感染マウスで見られる、高血糖、インスリン値低下、膵臓ベータ細胞の破壊が見られなくなった。この効果は自己免疫性糖尿病を自然発症する NOD マウスにおいても高血糖の程度が軽い個体では認められたことから、Hp 感染が自己免疫性糖尿病を抑制することが明らかとなった。ストレプトゾトシンモデルを用いて、抑制メカニズムのさらなる検討を続けている。

[下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、久枝一]

(3) 腸管内寄生性条虫 *Hymenolepis microstoma* の SLE 抑制効果

Hymenolepis microstoma (Hm) は頭節をマウスの胆管に吸着させ体節を小腸から大腸へと伸ばす条虫で、無症状で長期間に渡って寄生する。この条虫の免疫抑制効果も検討した。高脂肪食による肥満モデルに感染させたが、抑制効果は認められないことが分かった。次いで、自然発症 SLE モデルである NZBWF1 マウスでの検討を行った。

このマウスは8ヶ月齢になると、血中の自己抗体が生じ、腎障害による蛋白尿、リンパ節腫脹を呈するようになり、10ヶ月齢には死に至る。2ヶ月齢のマウスに Hm を感染させると、自己抗体の産生は低下し、蛋白尿も見られなくなる。さらには、非感染マウスでは死亡する時期にも症状もなく、実験期間中

生存し続けた。このように、Hm は自然発症 SLE を抑制することが明らかとなった。現在、抑制メカニズムを詳細に検討中である。

[Olia Alex、下川周子、伊藤薫平、久枝一]

3. 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、核酸塩基の *queuine* が赤痢アメーバの tRNA に結合し、*queuine* 処理によって赤痢アメーバの酸化ストレス応答が上昇することを見いだしていた。反対に *in vitro* でのプロテアーゼ分泌は低下し、病原性発揮に必要とされる遺伝子群の発現が低下した。*queuine* が *in vivo* 病原性における役割を明らかにするために、*queuine* 存在下で3日間培養した赤痢アメーバを CBA/J マウスの腸管に接種した。その結果、*queuine* 処理によって赤痢アメーバは腸管に定着できなくなることが分かった。よって *queuine* は酸化ストレス応答と病原性の低下という二重の役割を担っていることを示す。

[Serge Ankri (テクニオン、トルコ)、下川周子、中野由美子、梅木優子、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 40 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. 原虫類のレファレンス活動

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 11 件受け入れ、形態検査の再確認と遺伝子検査を併用して同定した。

[案浦健、中野由美子]

III. 蠕虫類のレファレンス活動

令和元年度には計 91 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 52 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 43 検体のうち、旋毛虫症で 18 検体、有鉤囊虫症で 3 検体、エキノコックス症と肺吸虫症で各 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 48 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 32 例が寄生虫で、条虫:*Dibothriocephalus nihonkaiensis* (14)、*Taenia saginata* (11)、*Diphyllobothrium balaenopterae* (1)、*Echinococcus granulosus sensu stricto* (1)、*Spirometra erinaceieuropaei* (1)、

Taenia solium (1)、線虫:*Anisakis simplex sensu stricto* (2)、吸虫:*Schistosoma japonicum* (1)であった。

[森嶋康之、杉山広、山崎浩]

研修業務・審議会など

「令和元年度水道クリプトスポリジウム試験法実習」講義内容「水道原水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出」国立保健医療科学院、令和元年 5 月 [八木田健司、泉山信司]

「第 5 回動物由来感染症研修会」、講義内容「トキソプラズマ感染症」国立国際医療研究センター、令和元年 6 月

[永宗喜三郎]

「令和元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、令和元年 7 月 [杉山広]

「令和元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、令和元年 10 月 [杉山広]

「令和元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、令和元年 6 月 [案浦健、中野由美子]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説(欧文)

- 1) [Shimokawa C](#), Obi S, Shibata M, [Olia A](#), Imai T, Suzue K, [Hisaeda H](#). Suppression of obesity by an intestinal helminth through interactions with intestinal microbiota. *Infect. Immun.*, 87: e00042-19, 2019.
- 2) Imai T, Suzue K, Ngo-Thanh H, Ono S, Orita W, Suzuki H, [Shimokawa C](#), [Olia A](#), Obi S, Taniguchi T, Ishida H, Van Kaer L, Murata S, Tanaka K, [Hisaeda H](#). Fluctuation of spleen cytokine and blood lactate, importance of cellular immunity in host defense against blood stage malaria *Plasmodium yoelii*. *Front. Immunol.*, 10:2207, 2019.

- 3) Tsuchioka H., Izumiyama S., Endo T., Wada T., Harada H., Hashimoto A. Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating *Escherichia coli* in seawater using Colilert-18. *J. Microbiol. Methods*, 159:69-74, 2019.
- 4) Hara T., Yagita K. and Sugita Y. Pathogenic free-living amoebic encephalitis in Japan. *Neuropathology*, 39:251-258, 2019.
- 5) Ueno S., Eguchi H., Hotta F., Fukuda M., Kimura M., Yagita K., Suzuki T., Kusaka S. Microsporidial keratitis retrospectively diagnosed by ultrastructural study of formalin-fixed paraffin-embedded corneal tissue: a case report. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 18(1):17, 2019.
- 6) Ueno S., Eguchi H., Hotta F., Fukuda M., Kimura M., Yagita K., Suzuki T., Kusaka S. Microsporidial keratitis retrospectively diagnosed by ultrastructural study of formalin-fixed paraffin-embedded corneal tissue: a case report. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 18(1):17, 2019.
- 7) Nakada-Tsukui K., & Nozaki, T. The emerging role of trogocytosis in the evasion of cancers and parasitic protists from immune cells. *Biotarget*, 4:4, 2020.
- 8) Watanabe N., Nakada-Tsukui, K., & Nozaki, T. Two isotypes of phosphatidylinositol 3-phosphate-binding sorting nexins play distinct roles in trogocytosis in *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.*, 22(3), e13144, 2020.
- 9) Yanagawa, Y., Arisaka, T., Kawai, S., Nakada-Tsukui, K., Fukushima, A., Hiraishi, H., Chigusa, Y., Gatanaga, H., Oka, S., Nozaki, T., & Watanabe, K. Case Report: Acute Amebic Colitis Triggered by Colonoscopy: Exacerbation of Asymptomatic Chronic Infection with *Entamoeba histolytica* Accompanied by Dysbiosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 101(6):1384–1387, 2019.
- 10) Nakada-Tsukui, K., Watanabe, N., Maehama, T., & Nozaki, T. Phosphatidylinositol Kinases and Phosphatases in *Entamoeba histolytica*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 9:150, 2019.
- 11) Appiah-Kwarteng C., Saito T., Toda N., Kitoh K., Nishikawa Y., Adenyo C., Kayang B., Owusu E.O., Ohya K., Inoue-Murayama M., Kawahara F., Nagamune K., Takashima Y. Native SAG1 in *Toxoplasma gondii* lysates is superior to recombinant SAG1 for serodiagnosis of *T. gondii* infections in chickens. *Parasitol. Int.* 69:114-120, 2019.
- 12) Araki Y., Awakawa T., Matsuzaki M., Cho R., Matsuda Y., Hoshino S., Shinohara Y., Yamamoto M., Kido Y., Inaoka D.K., Nagamune K., Ito K., Abe I., Kita K. “Complete biosynthetic pathways of ascofuranone and ascochlorin in *Acremonium egyptiacum*.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 116(17):8269-8274, 2019.
- 13) Taniguch Y., Yanagihara I., Nakura Y., Ichikawa C., Saito T., Appiah-Kwarteng C., Matsuzaki M., Fukumoto J., Nagamune K., Kyan H., Takasu M., Kitoh K., Takashima Y. A *Toxoplasma gondii* strain isolated in Okinawa, Japan shows highvirulence in Microminipigs. *Parasitol. Int.* 72:101935, 2019.
- 14) Araki T., Kawai S., Kakuta S., Kobayashi H., Umeki Y., Saito-Nakano Y., Sasaki T., Nagamune K., Yasutomi Y., Nozaki T., Franke-Fayard B., Khan S.M., Hisaeda H., Annoura T. Three-dimensional electron microscopy analysis reveals endopolygeny-like nuclear architecture segregation in Plasmodium oocyst development. *Parasitol. Int.*, 76:102034, 2019.

- 15) Fukumoto J., Yamano A., Matsuzaki M., Kyan H., Masatani T., Matsuo T., Matsui T., Murakami M., Takashima Y., Matsubara R., Tahara M., Sakura T., Takeuchi F., Nagamune K. Molecular and biological analysis revealed genetic diversity and high virulence strain of *Toxoplasma gondii* in Japan. *PLoS One*, 15 (2):e0227749, 2020.
- 16) Korekawa A., Nakajima K., Makita E., Aizu T., Hara K., Maruyama H., Morishima Y., Nakano H. & Sawamura D. Two cases of cutaneous gnathostomiasis after eating raw *Salangichthys microdon* (icefish, shirauo). *J. Dermatol.*, 46: 791-793, 2019.
- 17) Irie T., Yamada K., Morishima Y. & Yagi K. High probability of pet dogs encountering the sylvatic cycle of *Echinococcus multilocularis* in a rural area in Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 81:1606-1608, 2019.
- 18) Watahiki M., Uchida K., Kanatani J., Kato T., Kimata K., Isobe J., Oishi K., Tozaki K., Sekiguchi K., Horita Y., Morishima Y., Sugiyama H. Molecular identification of parasites isolated from the stomach of patients with *Anisakis* food poisoning in Toyama Prefecture, Japan, in 2018. *Jpn J. Infect. Dis.*, 73, in press, 2020.
- 19) Sugiyama H., Morishima Y., Kagawa C., Araki J., Iwaki T., Ikuno H., Miguchi Y., Komatsu N., Kawakami Y., Asakura H. Current incidence and contamination sources of ascariasis in Japan. *Food Hyg. Safty. Sci.*, 61, in press, 2020.
- 20) Takahashi T., Kabeya H., Sato S., Yamazaki A., Kamata Y., Taira K., Asakura H., Sugiyama H., Takai S., Maruyama S., Prevalence of *Yersinia* among wild Shika deer (*Cervus nippon*) and boars (*Sus scrofa*) in Japan. *J. Wildlife Dis.*, 56:270-277, 2020.
- 21) Yamazawa E., Ohno M., Satomi K., Yoshida A., Miyakita Y., Takahashi M., Satomi N., Asanome T., Maeshima A., Shiotsuka M., Iwata S., Yamasaki H., Morishima Y., Sugiyama H., Narita Y. First case of human neurocoenurosis caused by *Taenia serialis*: A case report. *Int. J. Infect Dis.* 92:171-174; 2020.
- 22) Kawai S., Annoura T., Araki T., Shiogama Y., Soma S., Takano J.I., Sato M.O., Kaneko O., Yasutomi Y., Chigusa Y. Development of an effective alternative model for in vivo hypnozoite-induced relapse infection: A Japanese macaque (*Macaca fuscata*) model experimentally infected with *Plasmodium cynomolgi*. *Parasitol. Int.* 76:102096. in press, 2020.
- 23) Araki T., Kawai S., Kakuta S., Kobayashi H., Umeki Y., Saito-Nakano Y., Sasaki T., Nagamune K., Yasutomi Y., Nozaki T., Franke-Fayard B., Khan S.M., Hisaeda H., Annoura T. Three-dimensional electron microscopy analysis reveals endopolygeny-like nuclear architecture segregation in *Plasmodium* oocyst development. *Parasitol. Int.*, 76:102034. in press, 2020.
- 24) Ozaki K., Iwasaki A., Sezawa D., Fujimura H., Nozaki T., Saito-Nakano Y., Suenaga K., Teruya T. Isolation and total synthesis of mabuniamide, a lipopeptide from an *Okeania* sp. marine Cyanobacterium. *J. Nat. Prod.*, 82(10):2907-2915, 2019.
- 25) Iwasaki K., Iwasaki A., Sumimoto S., Nozaki T., Saito-Nakano Y., Suenaga K. Ikoamide, an antimalarial lipopeptide from the marine Cyanobacterium *Okeania* sp. *J. Nat. Prod.*, 83:481-488, 2020.
2. 原著論文、総説(和文)
- 1) 久枝一 寄生虫症の臨床と基礎研究の最近の話題、臨床免疫・アレルギー科 73, 147-152, 2020.

- 2) 久枝一 腸管内寄生虫による肥満抑制のメカニズム, *Bioscience & Industry* 78, 21-23, 2020.
- 3) 森康則、永井佑樹、赤地重宏、杉山寛治、田中慶郎、茶山忠久、西智広、濱口真帆、吉村英基、泉山信司 次亜塩素酸ナトリウム消毒を阻害する高アルカリ温泉水に対するモノクロラミン消毒の実地検証—三重県津市の榊原温泉における検討—. *温泉科学*, 69:90-102, 2019.
- 4) 平位暢康、王寺幸輝、三須政康、吉川正英、小川拓、福盛達也、今北菜津子、西村知子、奥田菜緒、古川龍太郎、吉原真吾、笠松丈人、笠原敬、三笠桂一、山崎浩、森嶋康之 タイ帰国後に無鉤条虫を認めた一例. *Clin. Parasitol.*, 30:43-45, 2019.
- 5) 高本雅哉、田中景子、向井早紀、名取達矢、山崎浩、森嶋康之 長野県で見いだされたサル裸頭条虫の1例. *Clin. Parasitol.*, 30:46-48, 2019.
- 6) 佐原利典、中村(内山)ふくみ、田宮彩、森嶋康之、山崎浩 大西健児 当院で3年間に経験した無鉤条虫症4例についての検討. *Clin. Parasitol.* 30:49-51, 2019.
- 7) 山崎浩、森嶋康之、杉山広、山澤恵理香、大野誠、宮北康二、高橋雅道、里見奈都子、浅野目卓、里見介史、吉田朗彦、前島亜希子、塩塚美歌、岩田敏、成田善孝 連節条虫によるヒト脳共尾虫症の第1例. *Clin. Parasitol.* 30:52-54, 2019.
- 8) 森嶋康之、杉山広、児玉文宏 北海道において2018年に発生した旋毛虫症例. *Clin. Parasitol.* 30:101-103, 2019.
- 9) 門馬直太、杉山広 2018年に福島県で多発したカツオを原因とするアニサキス食中毒について. *食品衛生研究*. 70(5):51-55, 2020.
- 10) 綿引正則、内田薫、金谷潤一、加藤智子、木全恵子、磯部順子、大石和徳、東崎香奈、關口健治、堀田和、森嶋康之、杉山広 アニサキス食中毒事例から摘出された胃寄生虫体の分子同定結果(富山県). *病原微生物検出情報* 41:40-42, 2020.
- 11) 杉山広 -人と動物の共通感染症の最新情報(XV)-アニサキス症, *日獣会誌*, 72:581-586, 2019.
3. 書籍(和文)
- 1) 高木綾湖、永宗喜三郎 小学館の図鑑 NEO [新版]水の生物(写真提供)白山義久他編 小学館、2019
- 2) 津久井久美子 寄生性原虫のオートファジー 週刊医学のあゆみ 第5曜特集 272(9):839-846, 2020.
- 3) 津久井久美子、野崎智義 トロゴサイトーシスの分子機構の解明-寄生性原虫を発見の端緒として- 感染 炎症 免疫 49(1): 54-57, 2019.
- II. 学会発表
1. 国際学会
- 1) Shimokawa C., Kato T., Takeuchi T., Ohno H., Hisaeda H. Trehalose from parasitic worm prevents type 1 diabetes by communicating with gut microbes. Keystone symposia, Cape Town, South Africa, Dec. 2019.
- 2) Sekiguchi A., Motegi S., Ishikawa O., Shimokawa C., Hisaeda H. Prevention of drug-induced systemic sclerosis in mice infected with intestinal helminthes. The 49th Annual Meeting of European Society for Dermatological Research, Bordeaux, France, Sep. 2019.
- 3) Nakada-Tsukui K., Watanabe N., Machama T., Nozaki T. Phosphatidylinositol kinases and phosphatases in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. ASCB|EMBO 2019 meeting, Washington DC, USA, Dec. 2019.

- 4) Nakada-Tsukui K., Shibata K., Nozaki T. Atg8 is differentially recruited to two types of phagosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 9th international symposium on autophagy, Taioei, Tiawan, Nov. 2019.
 - 5) Nakada-Tsukui K., Suzuki M., Nozaki T. What determines trogocytosis and phagocytosis? Eukaryome impact on Intestine homeostasis and mucosal immunology, Paris, France, Oct. 2019.
 - 6) Fukumoto, J., Sakura, T., Matsubara, R., Tahara, M., Matsuzaki, M., Nagamune, K. Identification and characterization of a novel host mitochondria-recruitment factor of *Toxoplasma gondii*. 15th biennial meeting on *Toxoplasma* biology and toxoplasmosis, Quindio, Colombia, Jun. 2019.
 - 7) Matsuzaki, M., Fukumoto, J., Kyan, H., Masatani, T., Matsuo, T., Murakami, M., Takashima, Y., Nishikawa, Y., Nagamune, K. Tracing migration history of Japanese *Toxoplasma* population based on genome-wide SNP analysis. 15th biennial meeting on *Toxoplasma* biology and toxoplasmosis, Quindio, Colombia, Jun. 2019.
 - 8) Matsuzaki, M., Fukumoto, J., Kyan, H., Masatani, T., Matsuo, T., Murakami, M., Takashima, Y., Nishikawa, Y., Nagamune, K. A genome-wide SNP analysis reveals the migration history of Japanese *Toxoplasma* populations VIII ECOP-ISOP joint congress2019, Rome, Italy, Jul. 2019.
 - 9) Araki T., Kawai S., Kikuchi M., Umehara T., Umeki Y., Saito-Nakano Y., Franke-Fayard B., Khan M. S., Janse J. C., Nozaki T., Hisaeda H., Annoura T. A novel histone methylase SET-hyp play a critical role in *Plasmodium* liver-stage development United States-Japan Cooperative Medical Science Program The 50th Joint Conference on Parasitic Diseases, Matsuyama, Japan. Feb. 2020.
 - 10) Mitsuhashi T., Annoura T., Yokomori R., Konishi H., Hoshiai A., Kamono M., Uruma T., Saito-Nakano Y., Arai T., Hirai Y. A malaria caused by co-infection with *Plasmodium falciparum* and undetermined non-human primate malaria, followed by visit friends and relatives, in a 38 years-old Guinean male who lives in Tokyo. 19th International Congress on Infectious Diseases. Kuala Lumpur, Malaysia. Feb. 2020.
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
- 1) 森康則、永井佑樹、赤地重宏、杉山寛治、田中慶郎、茶山忠久、西智広、濱口真帆、吉村英基、泉山信司 次亜塩素酸ナトリウム消毒を阻害する高アルカリ温泉水に対するモノクロロミン消毒の検証 -三重県津市の榊原温泉における検討-、日本温泉科学会、2019年11月、台湾、台中市
 - 2) 森康則、赤地重宏、永井佑樹、吉村英基、泉山信司 温泉付随ガス分離設備にレジオネラ属菌による汚染実態と対策、日本温泉科学会、2019年11月、台湾、台中市
 - 3) 小倉徹、植園健一、枝川亜希子、泉山信司、松田宗大、松田尚子、藤井明 モノクロロミン管理下の浴槽循環ろ過装置内のろ材バイオフィームに対する各種消毒剤の消毒効果の検討、日本防菌防黴学会、2019年9月、大阪府
 - 4) 松田宗大、枝川亜希子、泉山信司、小倉徹、植園健一、松田尚子、藤井明 循環式浴槽から分離された *Mycobacterium phlei* に対するモノクロロミンの殺菌効果、日本防菌防黴学会、2019年9月、大阪府
 - 5) 泉山信司 水道水を介してクリプトスポリジウムに感染するリスクの計算、環境技術学会、2019年6月、

- 京都市
- 6) 津久井久美子 赤痢アメーバの二種類の貪食胞では Atg8 の動員効率が異なる 第 12 回オートファジー研究会、2019 年 10 月、掛川市
 - 7) 津久井久美子 赤痢アメーバ原虫は貪食様式をどのように決定するか？ 嘔み付くか？ 飲み込むか？ 第 27 回分子寄生虫学ワークショップ・第 17 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2019 年 8 月、松山市
 - 8) 津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝雄、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代謝酵素のゲノム解析 第 19 回日本蛋白質科学会年会／第 71 回日本細胞生物学会大会合同年次大会、2019 年 6 月、神戸市
 - 9) 永宗喜三郎 トキソプラズマの寄生戦略に関する分子細胞生物学的研究 第 52 回日本原生生物学会大会 原生生物学会賞受賞記念講演 2019 年 10 月、水戸市
 - 10) 永宗喜三郎 世界で最も身近な寄生虫、トキソプラズマー沖縄、そして日本はトキソプラズマ危険地帯なのか？ トキソプラズマ講習会、2019 年 9 月、沖縄県うるま市
 - 11) 永宗喜三郎 世界で最も身近な寄生虫、トキソプラズマー沖縄、日本はトキソプラズマ危険地帯なのか？ ワンヘルスに関する講習会、2020 年 2 月、沖縄県那覇市
 - 12) 松崎素道、川原史也、福本隼平、喜屋武向子、正谷達膳、松尾智英、村上麻美、高島康弘、西川義文、永宗喜三郎 日本分離トキソプラズマのゲノムワイド SNP 解析により見えてきたトキソプラズマ「第 7 クレード」 第 27 回分子寄生虫学ワークショップ／第 17 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2019 年 8 月、松山市
 - 13) 松崎素道、川原史也、福本隼平、喜屋武向子、正谷達膳、松尾智英、村上麻美、高島康弘、西川義文、永宗喜三郎 ゲノムワイド SNP 解析による日本分離トキソプラズマの解析 第 52 回日本原生生物学会大会 2019 年 10 月、水戸市
 - 14) 福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、松崎素道、永宗喜三郎 トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート因子 ROP39 の解析 第 3 回日本共生生物学会 2019 年 11 月、横浜市
 - 15) 松崎素道、川原史也、福本隼平、喜屋武向子、正谷達膳、松尾智英、村上麻美、高島康弘、西川義文、永宗喜三郎 ゲノムワイド SNP 解析が明かす日本のトキソプラズマ集団の移動史 第 3 回日本共生生物学会 2019 年 11 月、横浜市
 - 16) 平位暢康、王寺幸輝、三須政康、吉川正英、小川拓、福盛達也、今北菜津子、西村知子、奥田菜緒、古川龍太郎、吉原真吾、笠松丈人、笠原敬、三笠桂一、山崎浩、森嶋康之 タイ帰国後に無鉤条虫を認めた一例 第 30 回日本臨床寄生虫学会大会、2019 年 6 月、東京都
 - 17) 佐原利典、中村(内山)ふくみ、田宮彩、森嶋康之、山崎浩、大西健児 当院で 3 年間に経験した無鉤条虫症 4 例についての検討 第 30 回日本臨床寄生虫学会大会、2019 年 6 月、東京都
 - 18) 山崎浩、森嶋康之、杉山広、山澤恵理香、大野誠、宮北康二、高橋雅道、里見奈都子、浅野目卓、里見介史、吉田朗彦、前島亜希子、塩塚美歌、岩田敏、成田善孝 連節条虫によるヒト脳共尾虫症の第 1 例 第 30 回日本臨床寄生虫学会大会、2019 年 6 月、東京都
 - 19) 森嶋康之、杉山広、児玉文宏 北海道において 2018 年に発生した旋毛虫症例 第 30 回日本臨床寄生虫学会大会、2019 年 6 月、東京都

- 20) 八木欣平、孝口裕一、入江隆夫、森嶋康之 エキノコックス症予防のための愛玩動物対策 第 13 回 爬虫虫研究会、2019 年 7 月、宮崎市
- 21) 山田恭嗣、八木欣平、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之 エキノコックス症流行地における飼いイヌの感染状況とその対策の重要性 第 70 回 北海道獣医師大会、2019 年 8 月、北見市
- 22) 長谷川晶子、海野明弘、柘植康、森嶋康之、松本昌門 愛知県で 2018 年 3 月に発見された 3 件のエキノコックス陽性犬 第 162 回日本獣医学会学術集会、2019 年 8 月、つくば市
- 23) 山田恭嗣、八木欣平、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之 エキノコックス症流行地における飼いイヌの感染状況とその対策の重要性 北小獣年次大会 2019、2019 年 8 月、札幌市
- 24) 山田恭嗣、八木欣平、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之 エキノコックス症流行地における飼いイヌの感染状況とその対策の重要性 令和元年度日本獣医師会獣医学術年次大会、2020 年 2 月、東京都
- 25) 杉山広、森嶋康之、賀川千里 シロザケの筋肉各部位におけるアニサキス幼虫の寄生状況 第 30 回日本臨床寄生虫学会大会、2019 年 6 月、東京都
- 26) 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、平川公昭、M. カルボピーニャ エクアドル産 *Amphimerus* 属肝吸虫のハムスターへの感染試験 第 79 回日本寄生虫学会東日本支部会、2019 年 10 月、下野市
- 27) 杉山広 アニサキス食中毒はなぜ増加したか？ 傾向と対策 第 52 回日本食品微生物学会学術セミナー、2019 年 12 月、大阪市
- 28) 杉山広 アニサキス症、令和元年度希少感染症診断技術研修会、2020 年 1 月、東京都
- 29) 杉山広 アニサキスによる食中毒、令和元年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、2020 年 2 月、東京都
- 30) 案浦健、荒木球沙、川合覚、前野芳正、Vu Duc Chinh、久枝一 霊長類マラリアを用いた原虫の休眠・増殖・病態メカニズムの解明 第 27 回 分子寄生虫学ワークショップ／第 17 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2019 年 8 月、松山市
- 31) 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機構の解明 第 27 回 分子寄生虫学ワークショップ／第 17 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2019 年 8 月、松山市
- 32) 荒木球沙、川合覚、角田宗一郎、小林宏尚、永宗喜三郎、野崎智義、久枝一、案浦健 電子顕微鏡 3D 構造解析により初めて明らかとなったオーシスト期マラリア原虫の核分裂様式 第 79 回日本寄生虫学会東日本支部大会 2019 年 10 月 14 日、東京都
- 33) 中野由美子 赤痢アメーバの薬剤耐性機構の理解に向けたミューテーター技術 第 29 回感染研シンポジウム 2019 年 5 月 21 日、東京都
- 34) 多久和泉、平井智浩、新澤直明、岩永史朗、牧内貴志、永宗喜三郎、野崎智義、中野由美子 熱帯熱マラリア原虫 N-アシル化 Rab5b と Arf1 は小胞体近傍から寄生胞膜への輸送に関与する。第 71 回日本細胞生物学会大会・第 19 回日本蛋白質科学学会 合同年次大会 2019 年 6 月、神戸市
- 35) 多久和泉、平井智浩、新澤直明、岩永史朗、牧内貴志、永宗喜三郎、野崎智義、中野由美子 熱帯熱マラリア原虫 N-アシル化 Rab5b と Arf1, Ran1b の小胞体近傍における局在解析。第 79 回日本寄生虫学会東日本支部大会 2019 年 東京都