

## 6. 寄生動物部

部長 野崎 智義

### 概要

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

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

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

に関しては、虫卵検出のための新たな検査方法の確立に取り組み、その方法で輸入キムチとエキノコックス流行地で栽培された行者ニンニクの虫卵汚染状況を調べた。また本症の発生状況に関して、文献的および検査機関データをを用いた解析に取り組んだ。さらに、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体（病理組織標本を含む）については、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、検査・診断のサポートを行った。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、シャーガス病などを主な研究対象としている。マラリアやシャーガス病は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、国内にもベクターとなるハマダラカが生息しており、また近年は輸血を介する感染の危険性も報告されており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの寄生虫症浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、国内での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行った。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部は、実際に検疫業務や途上国での寄生虫症対策にも応用されている。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する基礎的研究を、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科学研究費補助金（インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、顧みられない寄生虫病の効果的監視法の確立と感染機構の解明に関する研究、アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究等）、文部科学省科学研究費補助金（新学術領域「マトリョーシカ型進化原理」、基盤研究、海外学術）、日本学術振興会二国間交流事業費、日本予防医学協会委託事業費等を取得した。

人事面では、再任用職員として山崎 浩、客員研究員として川中正憲、大前比呂志、武田正倫、荒木 潤、高宮信三郎、熊澤秀雄、記野秀人、松田 肇、千種雄一、亀井喜

世子、協力研究員として渡辺恒二、柳川泰昭、川原史也、下河原理江子、黒木俊郎、岡本憲明、柴田勝優、荒川京子、梅原梓里、坪川大悟、佐藤大竹マルセロ、荒井絢子、流動研究員として Ghulam Jeelani, Herbert Santos, Avik Mukherjee, Somlata, Koushik Das、研究生・実習生として松原立真、花館有希、丸茂このみ、渡辺菜月、Arif Nurkanto、小池明人、岡崎隆三、荒川早紀、福本準平、平井智浩、川野哲郎、宮本絵梨、山岸美菜、荒木球沙、吉田猛敏、鈴木桜織が在籍し、研究等に従事した。更にインドネシアバイオテックセンター、BPPT からアイルラング大学から Dwi Peni Kartika、Ratna Wahyuni が共同研究員としてに約 2 ヶ月間共同研究に従事した。非常勤職員として、中川玲子、村上裕子、坂本怜子、臨時研究補助員として佐藤映美、中曾根英子、田原美智留、賀川千里、原 将子が在籍し、研究等に従事した。

## 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) クリプトスポリジウム抗原検出イムノクロマト (IC) の開発

クリプトスポリジウム検出用モノクロー抗体の糞便内抗原に対する反応性を試作 IC でテストした。まず ELISA ならびにドットプロット法により 3 種類のモノクロー抗体クローンを選択した。これらのモノクロー抗体は、糞便検体の遠心上清に対しても反応を示し、オーシスト壁の可溶化抗原あるいは微細に断片化されたものと反応するものと考えられた。3 種類の抗体より 6 組の抗体セットを考案し、検出用抗体ならびに金コロイド感作用抗体にわけて使用した IC を試作、ジアルジア、クリプトスポリジウム、サイクロスボラ各陽性試料を用いてその反応性を調べた。6 種類の抗体組合せの中で 5 種類はクリプトスポリジウム検出に適するという結果を得た。

[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生 (アーク・リソース株) ]

###### (2) ジアルジア・クリプトスポリジウム同時検出イムノクロマト (IC) の開発

試作段階で最も感度、特異性が優れたクリプトスポリジウム検出用モノクロー抗体セットと、既に開発したジアルジア抗体セットをともに同一 IC に組み込んだジアルジア・クリプトスポリジウム同時検出 IC を試作した。各種消化管原虫陽性便検体、およびこれら原虫類の陰性便検体を用いて試作 IC の性能を調べた。ジアルジアとクリプトスポリジウムに対して各原虫の特異的反応を、また実験的に調製した両原虫陽性検体に対する重複反応も確認した。他原虫陽性および原虫陰性検体での反応は見られなかった。両原虫陽性の臨床材料の中では、一方の原虫反応が単独検出用 IC の場合よりも減弱する場合があります、感度調整の問題が残された。

[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生 (アーク・リソース株) ]

###### (3) 格子入り観察フィルター上での MPN 法を用いたクリプトスポリジウム定量

格子入り観察フィルター上で均一に分散させたクリプトスポリジウムの、MPN 法を用いた定量法を検討した。静置してからゆっくりろ過する分散性の高いプレパラート作成法を用いて、少数のオーシストを含む試料をろ過し、プレパラートを作成した。現行の方法でオーシストを計数して実計測値を求めると同時に、メンブランフィルターの陽性区画を計数して、ろ過水量から MPN 値を求め、両者を比較した。MPN 値と実計測値では、MPN 値が若干高め値となるものの、その平均値に有意差はなく、両者は同等であった。すなわち、格子入り観察フィルター上で均一に分散させたクリプトスポリジウムの、MPN 法による計数が可能となった。

[橋本 温 (県立広島大学)、遠藤卓郎、泉山信司]

###### (4) クリプトスポリジウム症の大規模集団感染を防ぐのに必要なバリア

クリプトスポリジウムは塩素消毒に抵抗性があることから、水道水を介して大規模な集団感染になることが問題である。定量的なリスク管理を試みるには、種類ごとの感染確率、水道原水中の濃度と種類、浄水処理による除去率といった数値が必要となり、そこから複雑に計算しリスク管理しようとする向きもあるのかも知れないが、これらの情報は非常に限られている。そこで本研究では

過去の大規模集団感染における患者発生数に着目した。感染確率や濃度は桁違いに変動することはあっても、この患者発生数が桁違いに大きく誤まる可能性は少なく、信頼できる値といえる。病原体の濃度が1桁減少すれば、患者発生数は1桁減少するという前提で、計算した。過去の集団感染では数千人から数十万人（4-Log 弱から6-Log 弱）が発生しており、これを抑えるのに必要な病原体除去は、単純に4~6-Log となる。10日間患者が発生し続けて、1日あたりの患者発生数が総数の1割の数千人から数万人と想定すると、3~5-Log 程度となるマルチプルバリアの導入が推奨と単純計算できた。

[泉山信司]

(5) 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究—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、新たな見地からの水道水の微生物学的な安全性向上の研究が求められている。配管内面の汚染を滅菌綿棒を使用して測定したところ、従属栄養細菌数が多数検出される場所を見出した。滞留、あるいは遅い流速からバイオフィームが生じたと考えられた。協力が得られた特定建築物と病院の水道蛇口から、十分に捨て水をしていない開栓直後の初流水を検査し、Legionella 属菌が培養により検出された。開栓直後の水を捨てること、定期的な捨て水を行い滞留させないこと、残留塩素濃度の維持、といった対策が推奨と考えられた。凝集沈殿処理を実施している全国の浄水場の協力を得て、水道原水にウイルス（アデノウイルス、トウガラシ微斑ウイルス (PMMoV) 他) を添加して人工原水とし、これを用いて凝集沈殿-砂ろ過処理を行うことで、処理性（除去率）を評価した。PMMoV と各種ウイルスは1~2-Log 程度の同程度の除去が得られ、PMMoV は凝集沈殿-砂ろ過処理におけるウイルスの指標として有効と期待された。相模川河川水を試料として検鏡法と qRT-PCR 法の比較を継続し、両法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムが78%、ジアルジアが81%と概ね対応が得られた。遺伝子増幅産物の塩基配列を決定したところ、ブタ由来の *C. suis* が多く検出され、汚染源の推定に活用できると考えられた。過去の大規模集団感染における患者発生数に着目し、水道水中の病原体濃

度が1桁減少すれば、患者発生は1桁減少するという前提で、クリプトスポリジウム症の大規模集団感染を防ぐのに必要なバリアの程度を計算した。国外では、2011年にスウェーデンで推定20,000人が発症する、水道が原因と推測されるクリプトスポリジウムによる大規模集団感染が生じており、未だに注意を要することに変わりはなかった。

[泉山 信司、秋葉 道宏 (国立保健医療科学院)、松下 拓 (北海道大学大学院工学研究科)、片山 浩之 (東京大学大学院工学研究科)]

## 2. 蠕虫症診断法・検出法・不活化法の開発

### (1) エキノコックス症検査キットの評価

エキノコックス症（感染症法四類）の診断は、特徴的な臨床症状に加え、画像診断や血清診断によって行われる。しかし、北海道以外の非流行地において本症の血清診断は広く普及しているとはいいがたく、当室で受け付けた依頼検査の中には民間の臨床検査会社で誤って判定された偽陰性例が散見される。そこで本研究では、一般の検査会社でも十分な対応が可能となるよう、国内で入手可能な検査キットの信頼性を比較・評価した。今年度は多包性エキノコックス症の診断を目的としたウェスタンブロット法もしくはイムノクロマト法に基づく市販検査キットの比較し、患者血清30検体を用いて両キットの検査感度を調べたところ、前者は93.3%、後者は80.0%と算定された。[森嶋康之、山崎 浩、杉山 広、大前比呂思]

### (2) イムノクロマト法による顎口虫症血清診断キットのタイにおける評価

幼虫移行症の1つである顎口虫症は、わが国では輸入症例も含めて散発的な発生が見られる。今回はキットの感度、ならびに特異性について、顎口虫症の流行が見られるタイにおいて評価を行った。評価試験は顎口虫症患者血清32、顎口虫症以外の寄生虫症患者血清114、健常人血清20、計166検体を用いて、イムノクロマト法と従来のウェスタンブロット法と比較した。その結果、イムノクロマトキットによる感度は94%、特異性は97%とウェスタンブロット法に匹敵する感度と特異性を有していた。[山崎 浩、Wanchai Maleewong・Intapan]

Pewpan Maleewong (タイ・コンケン大・医・寄生虫), 小林 薫, 高山勝好, 小林行治 (アドテック株式会社) ]

### (3) 寄生蠕虫の遺伝子検査

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、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 NADH dehydrogenase subunit 1 (nad1 遺伝子)、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。[森嶋康之, 杉山 広, 坂本怜子, 山崎 浩]

(4) 土壌媒介寄生虫卵検出のための新たな検査方法の確立: ストマッカー法および超音波法の検討

「食品衛生検査指針」では、検体となる野菜から土壌媒介寄生虫の虫卵を分離するに、野菜表面を歯ブラシなどで丁寧に洗うと記述されている。一方、食品細菌の検査分野では、ストマッカーや超音波洗浄機を機材として使用し、検体に付着する菌体を効率よく分離している。そこで、回虫卵を実験的に付着させた白菜を検体とし、これらの機材を導入した場合の虫卵検出能力を明らかにして、従来法との比較を試みた。その結果、虫卵の検出数についてはストマッカー法が最も勝ることが分かった。しかし夾雑物が増えて観察に相当の時間を要した。一方、超音波法は、一度に処理できる検体量が多く、検体処理に必要な時間や顕微鏡観察のための時間も短く、総合的な検査の効率化という観点から、最も秀でた方法との結

論に至った。本法を標準的な試験法として推奨すべきではないかと考えられた。[杉山 広, 荒川京子, 森嶋康之, 山崎 浩, 堀内朗子 (日本食品衛生協会食品衛生研究所)]

## 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) クドア食中毒事例におけるヒラメのクドア汚染量調査

2011年-2013年に自治体、地方衛生研究所が報告したクドア食中毒事例に関して、ヒラメ残品検査で測定された *kudoa septempunctata* 孢子数のデータを収集し解析した。12自治体からの25事例を調べた結果、21例で食品衛生法におけるクドア孢子数の基準  $10^6$  個/g 筋肉を超える孢子が検出されており、さらにその中の8例では孢子数が  $10^7$  個/g 筋肉を超えていた。食中毒リスクのある汚染ヒラメが流通していた実態が示される一方、基準以下の  $10^5$  個/g 筋肉の孢子数 (最少は  $3.2 \times 10^5$  個/g 筋肉) の残品も報告されていることから、孢子数の基準設定に関しては継続的な残品のクドア汚染量の調査が重要と考えられた。

[八木田健司]

(2) 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究-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、新たな見地からの水道水の微生物学的な安全性向上の研究が求められている。配管内面の汚染を滅菌綿棒を使用して測定したところ、従属栄養細菌数が多数検出される場所を見出した。滞留、あるいは遅い流速からバイオフィルムが生じたと考えられた。協力が得られた特定建築物と病院の水道蛇口から、十分に捨て水をしていない開栓直後の初流水を検査し、*Legionella* 属菌が培養により検出された。開栓直後の水を捨てること、定期的な捨て水を行い滞留させないこと、残留塩素濃度の維持、といった対策が推奨と考えられた。凝集沈殿処理を実施している全国の浄水場の協力を得て、水道原水にウイルス (アデノウイルス、トウガラシ微斑ウイルス (PMMoV) 他) を添加して人工原水とし、これを用いて凝集沈殿-砂ろ過処理を行うことで、処理性 (除去率) を評価した。PMMoV と

各種ウイルスは1~2-Log程度の同程度の除去が得られ、PMMoVは凝集沈殿-砂ろ過処理におけるウイルスの指標として有効と期待された。相模川河川水を試料として検鏡法とqRT-PCR法の比較を継続し、2法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムが78%、ジアルジアが81%と概ね対応が得られた。遺伝子増幅産物の塩基配列を決定したところ、ブタ由来の*C. suis*が多く検出され、汚染源の推定に活用できると考えられた。過去の大規模集団感染における患者発生数に着目し、水道水中の病原体濃度が1桁減少すれば、患者発生は1桁減少するという前提で、クリプトスポリジウム症の大規模集団感染を防ぐのに必要なバリアの程度を計算した。国外では、2011年にスウェーデンで推定20,000人が発症する、水道が原因と推測されるクリプトスポリジウムによる大規模集団感染が生じており、未だに注意を要することに変わりはない。

[泉山 信司、秋葉 道宏(国立保健医療科学院)、松下 拓(北海道大学大学院工学研究院)、片山 浩之(東京大学大学院工学研究科)]

### (3) 水道配管内における従属栄養細菌の調査について

水道配管内の汚染状況を把握するため、漏水や配管修繕の工事で発生した使用配管の内壁を対象に、従属栄養細菌数の調査を行った。従属栄養細菌数に影響を与えるのは水の停滞状況であり、工事内容の種類、使用年数、管種、材質の違いは細菌数に寄与しなかった。使用年数が長期の配管内部には鉄さび由来と思われる汚れが付着していたが、汚れと従属栄養細菌数の関連性は確認されなかった。給水管の設置条件により水の停滞が発生している配水管において検出数が極端に多かった。できる限り停滞が発生しないように水道配管の設計や設置方法の工夫を行うことが重要と考えられた。

[高藤 俊(浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ)、泉山 信司]

### (4) ブロック化された配水管網の管内壁における高い従属栄養細菌数

近年、地震等の災害時の迂回経路や需要増大時の水圧水量の均等化を目的に、配水区域のブロック化が行われ

ている。すなわち、適当な広さの配水区域に、複数の本管が接続されたり、隣接ブロックと接続されているなど、その区域に2,3箇所から水が流入し、水圧の変動や非常時への備えがなされている。ところがこうしたブロック内では水が滞留し、残留塩素濃度が低下したり赤水が発生するなど、実際の管理は容易ではないらしい。流速が遅ければ配管内で水道水中に含まれる夾雑物が沈降し、蓄積する恐れがある。例えば0.4m/s(少なくとも0.2m/s)の流速が1日1回あれば、配管はセルフクリーニングされると考えられており、配管を衛生的に維持するためにはそのような配慮が求められている。当該研究では、ブロック化により2方向から水の流入する配水管において、赤水苦情に伴う配管の布設替え工事があり、偶然に従属栄養細菌数の測定を行うことができた。2箇所の配管内面試料において高い従属栄養細菌数となったが、使用年数は他の比較した地点に比べて最も浅かった。問題の地点は、障害物を回避するために配管が上に立ち上がる場所であった。複雑な配管を極力避けること、流速を高めることが対策として考えられた。塩素濃度は最低限維持されているので、大腸菌、一般細菌で検出できる問題ではなく、従属栄養細菌数の活用など、配管を健全に維持するための対策が必要と考えられた。

[高藤 俊(浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ)、松島 有希子(桐生市水道局水質センター)、水野 聡(新潟市水道局技術部水質管理課)、泉山 信司]

### (5) 新築の特定建築物における蛇口初流水の微生物汚染実態

新築の特定建築物における水道配管内の微生物汚染の実態把握を目的として、入居直前から入居11か月後までの2か月毎に、水道末端等12か所から初流水を採取し、一般細菌数、大腸菌、従属栄養細菌数及びレジオネラ属菌について調査した。通常は検査対象とされない、開栓直後の初流水を試験した。入居前は、一般細菌数は11か所で100 CFU/mLを超えて検出され、従属栄養細菌数は12か所全てで2,000 CFU/mLを超えて検出された。入居1ヶ月後には大幅に減少し、これ以降は夏季に一時的な増加が見られたものの、経時的に減少した。レジオネラ属菌は、入居前の初流水において3か所で検出され、入居後に若干の変動はあったが、その後も継続して検出され

た。新築の特定建築物の水道配管は、入居前の時点で既に水道水の停滞による微生物汚染が起きており、入居後は水道使用により水の停滞が解消され、検出菌数が減少したと推察された。しかし、レジオネラ属菌の汚染は解消されず、汚染除去が困難なバイオフィルムの定着が想像された。

[田部井 由紀子(東京都健康安全研究センター)、泉山 信司]

#### (6) 相模川水系における遺伝子検出法を用いた原虫調査

顕微鏡観察による原虫類の計数には技術の習熟が必要であり、それに代わる試験方法として遺伝子検出法が平成24年に追加された。遺伝子検出法の適用実績はまだ少なく、さらなる知見の積み重ねと応用が求められている。本研究では、相模川河川水を試料として検鏡法と遺伝子検出法の比較を行った。両法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムは78%、ジアルジアは81%と概ね良好であった。クリプトスポリジウムの塩基配列は、ブタ由来の*C. suis*が多く検出され、支川の影響が大きいと推察された。遺伝子増幅産物の塩基配列の解読は、調査流域の汚染原因の推定に有用と考えられた。

[渡邊 洋大、北村 壽朗、上村 郁子、成澤 千秋、齊藤 巧介、岩谷 梓 (神奈川県企業庁水道水質センター)、泉山 信司]

#### (7) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

従来トキソプラズマには基本的に3つのクローン(タイプ1-3)しか存在せず、またこれらのクローンはクローンごとにそれぞれ病原性や分離場所が異なっていることが報告され、トキソプラズマにおける分子タイピングの重要性の根拠となっていた。しかし最近南米を始め世界各地の分離株を用いた解析から、トキソプラズマは今まで考えられていたよりも少し多様性が高いことが明らかになるなど、トキソプラズマの分子タイピング研究は新たなステージを迎えている。一方で、南北米および欧州以外の地域、特に日本を含むアジア地域のトキソプラズマの分子タイピングはほとんど解析されておらず、数少ない報告も古典的な3タイプを区別できるレベルに留まっており、充分なものとはいえない。我々の今まで

の研究により、タイプ2との近縁性が示された日本分離株のうちの1株は、タイプ1の中でも非常に病原性が高いことが知られているRH株とほぼ同等の強毒性を持つことを見出してきた。今回、この株の遺伝子を詳細に検討した結果、配列決定した遺伝子の多くはタイプ2と近縁であるが、タイプ1-3の病原性の違いに関与するとされる3つの遺伝子、ROP5, ROP16, ROP18のSNPsのみが高病原性株のものとも一致していた。このことは日本由来株の病原性の強弱も欧米由来株と同様、これら3つの遺伝子のSNPsで説明できる可能性が考えられた。現在、全ゲノム情報の配列決定および解析を進めている。

[福本隼平、喜屋武向子(沖縄県衛生環境研究所)、山野安規徳、永宗喜三郎]

#### (8) 熱帯熱マラリア原虫薬剤耐性流入の解析

近年、アルテミシニン耐性の熱帯熱マラリア原虫が東南アジアで報告され、他の地域への拡散が懸念されている。アルテミシニン耐性の広まりを解析し、今後の対策に役立てるために、アルテミシニン使用前のアーカイブサンプルから耐性獲得に必要と報告されている座位の一塩基置換(SNP)を決定した。1968年から1993年までの東南アジア、アフリカ、南アメリカで単離された培養株13 line について、今日アルテミシニン耐性の原因であると報告されているkelch protein K13のSNPsを確認した。その結果、耐性の原因であるSNPsはK13遺伝子のC末端側のドメインに存在していることが報告されているが、今回解析したのアーカイブサンプルでは、N末端ドメインに新規のK189T変異を1株から同定した。また、4株から143と144番目にAsn残基の挿入が検出された。よって、アルテミシニン耐性に関わる置換は2000年以前には広まっていないことを示唆している

[中野由美子、中曾根英子、平井誠(順天堂大)、美田敏宏(順天堂大)]

#### (9) 輸血を介した感染を防御するための研究

世界では輸血用血液製剤によって、非流行国でもマラリア、シャーガス病、バベシアに感染する事例が報告されている。我が国では、輸血による感染事故を防ぐために、供血者の海外渡航歴と居住歴の問診を強化しているが、海外の報告例を鑑みると十分であるとは断言できな

い。そのため、現行の血液製剤の調整・保存耐性における原虫の生存率の検討を行った。

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

## 2. 蠕虫症の疫学的研究・調査

### (1) 愛知県で発見されたイヌの多包条虫感染例

エキノコックス症（感染症法四類）はイヌの感染事例についても届出が義務づけられている。北海道以外、すなわち非流行地である本州以南の都府県からの届出は2005年の埼玉県で見つかった一例にとどまってきたが、2014年に愛知県阿久比町で捕獲されたイヌ1頭に多包条虫感染が発見され、本州2例目として報告された。そこでエキノコックスの侵入と定着の有無をみるため、2015年、阿久比町とその隣接2市（半田市・常滑市）においてイヌの糞便67検体を採集し、PCR法による特異的DNAの検出を試みたところ、常滑市内で採集された1検体から陽性反応を得、その塩基配列は多包条虫と一致した。陽性検体が地理的に接する地区である程度の間隔において採取されたことから、エキノコックス定着の可能性が示唆された。[森嶋康之、杉山 広、山崎 浩、八木欣平（北海道立衛生研究所）]

### (2) 蠕虫症の感染実態調査および食品汚染実態調査：レセプトデータベースに基づく原虫症の発生推定

わが国における寄生原虫症の発生数を推定する目的で診療報酬明細書（レセプト）データベースの活用を検討した。母集団33万人規模データベースを用い、2005～2009年の寄生蠕虫症のレセプト件数を調べ、登録数が最も多かったトリコモナス症について拡大推計を試みたところ、同症の年間発生数は約10.9万人と推定された。推定発生数の妥当性を評価するため、同データベースからトリコモナス症に対する承認薬（メトロニダゾール）処方数を抽出し、同様に拡大推計して比較を行ったところ、両者は概ね一致することが確認された。レセプトデータを用いた発生推定は比較的発生数の多い寄生虫症に対しては有用であると考えられる一方、発生頻度の低い疾患の推定法が今後の課題として残された。[森嶋康之、杉山広、山崎 浩]

### (3) 我が国の肺吸虫症に関連する疫学調査

#### ア. イノシシ肉における肺吸虫汚染の実態調査・続報

大分と鹿児島県のイノシシ肉に肺吸虫幼虫の汚染がある事は既に明らかにした。今年度も引き続き、大分のイノシシ肉の検査したところ、5検体のうち2検体から1隻、あるいは3隻の肺吸虫幼虫が検出された。検出虫体は遺伝子配列の解析結果から、いず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。陽性個体が続けて検出された事実から、イノシシ肉の生食習慣を持つイノシシ猟師に対する啓発活動が急務であると考えられた。[柴田勝優、杉山 広、荒川京子、森嶋康之、山崎 浩、川上 泰（麻布大）]

#### (4) シロザケ（秋鮭）における日本海裂頭条虫幼虫の寄生状況調査

わが国で見られる裂頭条虫症のほとんどは日本海裂頭条虫の感染による。ヒトはシロザケやサクラマスなどに寄生する日本海裂頭条虫の幼虫を経口的に摂取して感染するために、サケ・マスにおける幼虫の感染実態を調査した。2015年には北海道厚岸沖、あるいは新潟県村上市三面川で水揚げされたシロザケ（秋鮭）を計19尾調べたが、日本海裂頭条虫幼虫の検出には至らなかった[山崎浩、森嶋康之]。

#### (5) タイ東北部、ならびにラオス中部におけるテニア属条虫の分子疫学的調査

タイ・コンケン大学とラオス厚生省との国際共同研究として、タイ東北部（コンケン）とラオス中部カムオン県におけるテニア属条虫の分子疫学調査を実施した。タイ東北部からはテニア属条虫24隻、ラオス中部からは30隻、計54隻のテニア属条虫をヒト感染者から採取した。これらのテニア属条虫はミトコンドリアDNAの解析から全て無鉤条虫と同定された。さらに、cox1遺伝子のハプロタイプ解析を行ったところ、タイ東北部とラオスの無鉤条虫は2つの大きな遺伝的集団によって構成されていることが判明した。さらに、タイ西部（カンチャナブリ県）に分布する無鉤条虫集団とタイ東北部やラオスの無鉤条虫集団とは明らかに別のハプロタイプで構成されていることが明らかになった[山崎 浩、Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (Khon Kaen University,

Thailand), Sakhone Laymanivong (Centre of Malariology, Parasitology and Entomology, Ministry of Health, Lao PDR)]

#### (6) アニサキス(症)に関する疫学調査

##### ア. サンマにおける本虫の寄生状況調査・続報

秋の漁期に北海道と三陸沖で漁獲されたサンマの筋肉から、人体寄生種のアニサキス *Anisakis simplex sensu stricto* が検出され、食中毒予防の観点からサンマの生食には注意を払う必要があると、昨年の年報で報告した。今年度は冬季に南下して紀伊半島沖で漁獲されたサンマを入手し、アニサキスの寄生状況を調べた。検査した10尾のうち陽性は4尾で、このうち3尾の筋肉から虫体が検出された。検出された虫体の総数は5隻で、このうちの4隻が筋肉に寄生していた。検出虫体は寄生部位を問わず、総て *A. simplex sensu stricto* (人体寄生種) と同定された。以上の結果から、漁期を問わずサンマの筋肉にはアニサキス幼虫の寄生が見られ、サンマの生食には常時注意が必要と考えられた。[吉田猛敏, 柴田勝優, 杉山 広, 川上 泰(麻布大), 荒木 潤, 森嶋康之, 山崎 浩]

#### (7) 土壌媒介寄生虫症に関する疫学調査

##### ア. 文献的検索による発生状況調査

回虫・鞭虫・鉤虫は土壌媒介寄生虫とも呼ばれ、野菜を主な感染源とする食品媒介の寄生虫である。感染者数は最近では激減したとされるが、実態は明らかでない。そこで医中誌Webを用い、1990年1月から2015年12月までの原著論文から、日本国内で感染した症例を抽出した。その結果、回虫が225例、鞭虫が23例、鉤虫は8例であることが分かった。少数ながらも土壌媒介寄生虫症は継続して国内発生していた。感染源となる野菜の虫卵汚染が継続していると示唆されたことから、全症例について感染源を調べた。しかし感染源が明らかな症例はわずか32例で(生野菜、11例; 無農薬野菜、14例; 有機野菜、7例)、残り224例は明らかでなかった。原因となる野菜を特定しての感染予防対策は、立案が容易でないことが分かった。[杉山 広, 賀川千里, 荒川京子, 森嶋康之, 山崎 浩]

##### イ. 検査機関データを用いた発生状況検索

臨床検体の検査会社が、全国の医療機関から原因虫種の同定を依頼された症例のうち、土壌媒介寄生虫症の例数に関して提示を受け、その発生状況を整理した。その結果、2000年から2015年までの16年間に、回虫が272例、鞭虫が283例、鉤虫は215例であった。症例数が文献検索より多いのは、経口感染だけではなく経皮感染の鉤虫症例(主にアメリカ鉤虫症)も含まれること、海外で感染した症例(日本人と外国人)が含まれることなどが原因と考えられた。臨床の現場では、より多数の土壌媒介寄生虫症例が診断されている事実が示された。[杉山 広, 賀川千里, 荒川京子, 森嶋康之, 山崎 浩, 生野 博(BML)]

##### ウ. 輸入キムチの汚染状況調査

輸入キムチの土壌媒介寄生虫卵検査は、最近ではほとんど実施されておらず、汚染実態は明らかでない。一方、土壌媒介寄生虫の感染事例はいまだに発生があり、その感染源として輸入キムチを疑う症例も認める。そこで輸入キムチ(中国産3検体、韓国産2検体)を購入し、超音波法による寄生虫卵の検出を試みた。その結果、韓国産の1検体からダニの卵が検出された。しかし人体寄生性の寄生虫卵はいずれの検体からも検出されなかった。[杉山 広, 荒川京子, 森嶋康之, 山崎 浩, 堀内朗子(日本食品衛生協会食品衛生研究所)]

##### エ. 北海道産行者ニンニクのエキノコックス虫卵汚染調査

寄生虫エキノコックスによる人体症例は、感染症法で第4類に規定され、全例報告が義務付けられている。我が国では北海道全域にエキノコックス(多包条虫)分布し、地域住民に対する健康被害の原因として、大きな脅威となっている。北海道では陽性キツネの糞便にエキノコックスの虫卵を多数認めることから、その糞便で汚染された野草にはエキノコックスの虫卵が多数付着して、人への感染源になる可能性が高いと考えられた。特に行者ニンニクは非加熱で、あるいは加熱不十分で喫食される場合も多いと聞いた。そこで北海道の帯広市周辺で入手した行者ニンニク(41検体を2月末から5月上旬までの期間に6回に分けて購入)を対象として、超音波法による寄生虫卵検査を実施した。その結果、検体からは、

エキノコックスの虫卵が全く検出できなかった。今回の調査では、超音波法を用いることで、複数の検体を短時間のうちに洗浄処理した。被験物質の破損も認められず、特に集卵の目的に浮遊法を用いた場合には、顕微鏡下での虫卵観察が容易となった。このような利点は、野菜の寄生虫卵汚染検査を実施するに当たり、大きな利点になると考えられた。[杉山 広, 荒川京子, 森嶋康之, 山崎 浩, 堀内朗子 (日本食品衛生協会食品衛生研究所), 廣井豊子 (帯広畜産大学)]

### III. 分類・同定・臨床

#### 1. 原虫

##### 1. 移植患者でのアメーバ性脳炎の国内初症例

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

[八木田健司、岡村登喜子]

#### 2. 蠕虫

裂頭条虫属 (*Diphyllobothrium*) の模式種である *Diphyllobothrium stemmacephalum* の全ゲノム解析

裂頭条虫属条虫の中には未だ分類学的位置が不確定な種が含まれており、そのためには本属の模式種である *D. stemmacephalum* の DNA データが基本となるが、これまでに全ゲノムデータは全く解析されたことはなかった。そこで、*D. stemmacephalum* に感染した邦人症例を経験したのを機に、*D. stemmacephalum* の全ゲノム解析について次世代シーケンサーを用いて行った。その結果、まず、ミトコンドリアゲノムが解読され、大きさは 13,716 bp であった。近縁種のミトコンドリアゲノムと比較したところ、酸化的リン酸化に関与する 12 個の遺伝子、2 個

の rRNA 遺伝子、22 個の tRNA 遺伝子と 2 個の non-coding regions で構成され、基本的な構造、遺伝子の配列順序、転写方向は既知の裂頭条虫科条虫やテニア科条虫のミトコンドリアゲノムと同じであった。全ゲノム解析は今後の課題として残った [山崎 浩, 泉山信司, 野崎智義].

### 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 36 回衛生微生物技術協議会 (7 月 23~24 日, 仙台) においてレファレンスセンター等関連会議「寄生虫」を担当した。クドアに関するミニシンポジウム形式の情報交換の場として、主にヒラメ以外の魚類を原因食品とし、またクドア・セプトエンブクタータ以外を原因物質とする有害苦情事例の行政上の取り扱いについて議論を進めた。寄生虫性食中毒・有症苦情事例に関しては、引き続きサーベイランスを強化して、情報の交換も活発に行う必要があることを確認した。[杉山 広, 八木田健司, 森嶋康之, 永宗喜三郎, 野崎智義]

#### II. 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関 (医療機関、地方衛生研究所等) の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。[八木田健司、泉山信司、津久井久美子、永宗喜三郎]

台湾 CDC・陽明大学との共同研究により赤痢アメーバの疫学、分子疫学研究を継続して行った。台湾 CDC より供与された無症候性シストキャリアの検体由来の赤痢アメーバ株 2 株のゲノムデータの解析を進めた。[津久井久美子、泉山信司、Avik Mukherjee、野崎智義、Dar-der Ji (陽明大学)]

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

第 36 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。[八木田健司、永宗喜三郎]

### III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成27年度には、計51件の寄生虫症依頼検査があり、うち33件が寄生虫と確定診断された。

#### (1) 免疫学的方法による寄生虫症検査

線虫7種（ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫）、条虫4種（有鉤囊虫、マンソン弧虫、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、有鉤囊虫症とエキノコックス症については、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。その他の寄生蠕虫症については plate-ELISA を適用した。免疫学的検査依頼件数 16 検体のうちエキノコックス症 1 検体で特異抗体が検出された。[山崎 浩，杉山 広，森嶋康之]

#### (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 35 件あり、遺伝子の塩基解析結果もしくは形態学的観察に基づいて種の同定を行った。その結果 31 例が寄生虫で、遺伝子解析では、条虫症：日本海裂頭条虫 (13)，無鉤条虫 (5)，多包条虫 (1)，*Hymenolepis* sp. (1)，豆状条虫 (1)，線虫症：*Anisakis simplex* sensu stricto (4)，*Anisakis pegreffii* (2)，*Crassiocauda giliakiana* (2)，吸虫症：*Paragonimus westermani* (3n) (1)，形態学的観察では線虫症：鞭虫 (1) であった。[山崎 浩・杉山 広・森嶋康之]

## IV. 生理・生化学・分子生物学

### 1. 原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

#### (1) 原虫ゲノム情報の整備に関する研究

角膜炎患者のコンタクトレンズケースより分離された、*Acanthamoeba* に感染するウイルスゲノムを解析した。MiSeq による読み取りとアセンブルの結果、1Mb ものゲノムサイズがあり、1000 強の ORF が検出された。近縁の配列は、*Megavirus chilensis* であった。この様なゲノムサイズの大きい、いわゆる巨大核質ウイルスに共通する

遺伝子も、多く保存されていた。しかし多くの遺伝子は機能が不明であった。本分離ウイルスが果たして角膜炎に関与するのか、疫学、検査診断等を進める上で、本ゲノム情報は有用と考えられた。*Entamoeba* 株の解析は、リファレンス株の解析を進めた。従来の標準配列は 20Mb 強が約 1,500 コンティグに分断され、101 遺伝子に N を含むなど多数の N をギャップとして含み、他の株を解析するための基準とするには難があった。PacBio RSII を用いた読み取りができたことから、ゲノム配列のアセンブルを試みた。HGAP ソフトウェアによるアセンブルでは、255 コンティグと概ね良好な結果が得られたが、ゲノムサイズは 16Mb と小さく、配列の不足が懸念された。Sprai ソフトウェアでは、246 コンティグとさらに向上し、ゲノムサイズは 26.9Mb と欠落の心配がなく、より良い結果であった。

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

#### (2) アカントアメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

##### ア. メガウイルスの培養細胞に対する感染

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

[八木田健司]

イ. レジオネラ属菌のアメーバ感染における糖鎖の関与  
レジオネラ属菌は環境中でアメーバを宿主として増殖する。菌の感染性はアメーバの種類また株により異なり、感染に関与する受容体とそのリガンドの多様性が想定される。今回、菌-アメーバ感染系を用いて糖鎖およびレ

クチンの関与を調べた結果、ConA とセルビオオスの試験から Glc 残基が、WGA とヘパリンの試験から GlcNAc 残基が、菌のアメーバ感染初期に関与していることが示された。WGA 等レクチンが感染阻害に作用する一方で、同じレクチンの ConA ならびに高分子多糖のヘパリンに逆の感染促進効果が認められた。ヘパリンについては BCYE 培養で経時低下する菌の感染性の回復作用、また低濃度の菌をアメーバで増殖する菌検出法において検出感度向上に働く可能性も示された。

[八木田健司、泉山信司]

(3) トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にか

かる研究  
ア. トキソプラズマのカルシウム放出受容体様機能分子の探索

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

[松原立真 (筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎]

イ. トキソプラズマのミトコンドリア・リクルート因子同定の試み

トキソプラズマは宿主細胞に侵入した後、宿主細胞機能を様々に修飾することが知られている。中でも特に形態学的に顕著な変化として、宿主のミトコンドリアやERを原虫が増殖している寄生胞近辺に引き寄せる(リクルートする)という現象が昔からよく知られている。本研究では原虫由来のどのタンパク質が宿主オルガネラのリクルートに関わっているのかを解明するために、定量可能な質量分析法である iTRAQ を用いて宿主ミトコンドリアに特異的に結合するトキソプラズマ由来タンパク質の網羅的な同定を行った。さらにこれらのタンパク質が実際に宿主ミトコンドリアと共局在していることを免疫染色法により確認し、その結果、原虫を感染後 3 時間、12 時間、24 時間経過した細胞から精製したミトコンドリアと、非感染細胞と原虫の混合試料から精製したミトコンドリアを iTRAQ により比較した。感染細胞ミトコンドリアで非感染細胞の 1.5 倍以上の存在量を示し、かつ、シグナル配列などのドメイン構造や相同性検索、また各種の既報のプロテオーム解析の結果を参照することで、リクルート因子候補タンパク質として 6 種類のタンパク質を同定することができた。現在これらの候補タンパクのうち、特に誘引率が大きい 2 つの遺伝子についてノックアウト株を作成、解析中である。

[福本隼平 (筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎]

(4) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にか

かる研究  
ア. 赤痢アメーバにユニークなミトソーム膜タンパク質の同定

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

初めての発見であった。[Herbert Santos, 今井賢一郎(産業技術総合研究所)、花館有希、深沢嘉紀(産業技術総合研究所)、小田俊之(産業技術総合研究所)、見市文香(佐賀大学)、野崎智義]

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

真核細胞において運動や貪食は細胞膜上のリン脂質、特にリン酸化されたフォスファチジルイノシトール (PIP) により制御されることが知られている。赤痢アメーバも PIP を有するが、そのエフェクターとなるタンパク質は保存されていない。そこで PIP3 結合タンパク質を PIP3 結合ビーズとのアフィニティで同定した。153 タンパク質が同定され、うち 19 個が PI ビーズでのコントロール実験では検出されず、カバレッジ 2%以上で検出され、PI3P 結合タンパク質候補とした。このうち 7 つについてタグ付き高発現株を作成し機能解析を行っている。PIP3 はアクチン制御に重要な分子と考えられており、運動、貪食制御に新しい知見が得られることが期待される。[Somlata, 津久井久美子、野崎智義]

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

赤痢アメーバにおいて貪食胞の成熟過程に PI3P の関与が示されている。しかし既知のエフェクタータンパク質は保存されていない。PI3P シグナルの実体を明らかにするため、GFP 融合 PI3P 結合ドメイン (Hrs-FYVE) 発現細胞とコントロール細胞から貪食胞を精製し、FYVE 発現細胞で貪食胞への動員が低下するタンパク質の検索を行った。980 タンパク質が検出されたうち、FYVE 発現株で動員が減少していたタンパク質は 504 存在した。ノーマライズされた検出されたスペクトル数である quantitative value がコントロールで 2 以上の 279 遺伝子から小胞輸送への関与が予想されるものを優先にタグ融合発現株を作成し、局在解析と脂質結合性の検討を行う予定である。[渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子]

エ. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体の機能解析  
我々が同定した赤痢アメーバにユニークなリソソーム酵

素輸送受容体 cysteine protease binding protein family (CPBF) について、病原性との関与を明らかにする目的でブタ大腸組織の Ex-vivo 培養系にて組織侵入への効果を検討した。11 あるファミリー分子の全ての遺伝子発現抑制株について検討したが、有意な変化を見出すに至らなかった。そこでより単純なモデルであるムチンゲルへの侵入効率を評価するトランスウェルアッセイを準備し、評価中である。CPBF1 ドメイン 3 の結晶化について、組み換えタンパク質が不均一な集合体となり、結晶化が期待できないことが明らかとなった。リガンドとの結合に関わるオルガネラ内部部分とリガンドとの共発現を試み、機能的な構造を持つ組み換え体の作成を目指す。[丸茂このみ、高島英造(愛媛大学)、坪井敬文(愛媛大学)、志波智生(京都工芸繊維大学)、原田繁春(京都工芸繊維大学)、富井健太郎(産業技術総合研究所)、野崎智義、津久井久美子]

オ. 赤痢アメーバ新規薬剤開発に関する研究

新規赤痢アメーバ薬の薬剤ターゲットとしてコエンザイム A 合成過程に関わる pantothenate kinase と dephospho-CoA kinase1, 2 について研究を行った。各タグ付きタンパク質の高発現株並びに遺伝子発現抑制株の解析と組み換えタンパク質を用いた活性測定系の確立を行った。遺伝子発現抑制株では強い増殖阻害が pantothenate kinase, dephospho-CoA kinase 2 遺伝子発現抑制株で観察され、生存に必須なタンパク質であることが示唆された。各酵素の組み換えタンパク質を作成し、リン酸化活性を測定する系を立ち上げ、400 種類の天然物ライブラリーをスクリーニングした。酵素活性が 25%以下に低下した化合物を合計 8 種類見出した。今後赤痢アメーバへの効果、哺乳動物細胞への毒性を検討する。[Arif Nurkanto, Ghulam Jeelani, 野崎智義]

カ. 赤痢アメーバポリアミン代謝の解明

タンパク質伸長因子である eIF5A はポリアミンであるスペルミジンが付加(ハイプシン化)することが知られる唯一のタンパク質であり、原核生物を含むすべての生物に保存されている。赤痢アメーバにも eIF5A が存在しているがハイプシン化の最終過程に必須な deoxyhypusine hydroxylase がゲノムに存在しない。これが事実なら水

酸基のない未熟なハイブシン化修飾を受けた eIF5A はスペルミジン、ホモスペルミジン合成に関与する可能性がある。赤痢アメーバのポリアミン代謝を明らかにするため、ハイブシン化の第一段階の酵素 deoxyhypusinsynthase (DSH) の同定と性状解析、eIF5A1, 2 の性状解析を行った。赤痢アメーバゲノムには DSH が 2 種類存在したが、一つは活性中心の Lys が保存されておらず、組み換え体でも活性が無いことが示された。DSH1, eIF5A1, 2 について遺伝子発現抑制ができなかったことから生存に必須な遺伝子であったと考えられた。さらにタグ付きタンパク質として高発現させ、その局在を細胞分画により評価したところ、どのタンパク質も主にサイトゾルに局在する一方 100kg ペレットにも分画された。サイトゾル以外での機能が存在する可能性が示唆された。今後 eIF5A のハイブシン化の有無を明らかにし、ユニークなポリアミン代謝を明らかにする。[Ghulam Jeelani, 野崎智義]

キ. 赤痢アメーバにおけるグリセロール代謝と酸化ストレスの関係解明

嫌気環境に適応した赤痢アメーバにおいて酸化ストレスの回避は生存に必須である。以前我々はパラコートを用いた酸化ストレス条件下、解糖系の中間産物である dihydroxyacetone phosphate が glycerol 3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) と glycerol kinase (GK) によりグリセロールに代謝されることを見出した。代謝産物であるグリセロールの蓄積と抗酸化効果の関係は低いと考えられ、この代謝系を活性化させる意義が不明であった。そこで、G3PDH, GK によりそれぞれ NAD<sup>+</sup>, ATP が産生されることに着目し、これらの酵素活性が抗酸化効果を生むと考え解析を行った。組み換えタンパク質の精製、タグ付きタンパク質高発現株の樹立、遺伝子発現抑制株の準備ができた。今後活性測定、遺伝子発現抑制株での酸化ストレス耐性、細胞内局在を明らかにしていく。[山岸美菜, Ghulam Jeelani, 野崎智義]

ク. 赤痢アメーバオートファジーの解析

(i) Atg5/12-16 複合体の同定

オートファジー（自食作用）は真核生物に広く保存している分子過程である。一般的にはストレス条件下、サイ

トゾルにある分子やオルガネラをリソソームに送りアミノ酸を再取得する分子機構として理解されている。赤痢アメーバにおいてもオートファジーのマーカー分子である Atg8 とこの脂質修飾に関与する Atg3, 4, 7, は保存しているが Atg5/12-16 複合体の存在は明らかでなかった。そこで遺伝子検索でホモロジーが示唆された Atg5, Atg12 候補遺伝子の遺伝子発現抑制株を作成し、Atg8 の脂質修飾が阻害されることを見出した。さらにそれぞれを GFP 融合タンパク質として発現させ抗 GFP 抗体で免疫沈降し、銀染色で見出されたバンドの質量分析から Atg5/12-16 遺伝子とそこに結合していると考えられる赤痢アメーバにユニークなタンパク質を同定した。[柴田久美子, 宮本絵梨, 渡辺菜月, 野崎智義, 津久井久美子]

(ii) Atg8 結合タンパク質の同定

赤痢アメーバ Atg8 は貪食胞の酸性化に関与することが示されている。そこで Atg8 がどのような分子と相互作用し貪食胞成熟過程を制御するのかを知るため、Atg8 抗体で免疫沈降し、免疫複合体の質量分析から結合タンパク質の同定を試みた。赤痢アメーバ Atg8 は定常状態で脂質修飾型も存在するため、膜画分とサイトゾルに分け免疫沈降を行った。結果、サイトゾル画分から解糖系で連続した反応に関与する fructose-1,6-bisphosphate aldolase と triosephosphate isomerase を同定した。さらにタグ付きタンパク質として発現させ、Atg8 との結合を再確認した。解糖系の活性と Atg8 の関係を明らかにしたい。[宮本絵梨, 野崎智義, 津久井久美子]

ケ. 赤痢アメーバ脂質輸送タンパク質の解析

生物の生存に細胞膜系は必須である。膜を構成する脂質は主に小胞体またはミトコンドリアで合成され、PH, START, Sec14 ドメインなどの脂質結合ドメインを持つ脂質輸送タンパク質により各オルガネラに輸送される。赤痢アメーバはミトコンドリアが縮退し、痕跡オルガネラであるマイトソームを持ち、コレステロール合成系は持たず宿主から取り込んでいる。よって赤痢アメーバの脂質合成、輸送はユニークに制御されたと考えられた。そこで脂質輸送タンパク質の解析を行うため、既知の脂質輸送タンパク質のゲノム検索と転写解析で発現の高いと考えられた 11 のタンパク質について高発現株、組み換えタンパク

質、遺伝子発現抑制株を作成し、その局在、脂質結合能、赤痢アメーバ栄養体での機能解析を目指した。赤痢アメーバゲノムには他種生物で知られていた4種類の脂質輸送タンパク質群 (ORP, START-containing, Sec14-like, PRELI-containing) すべてについてホモログが存在していた。しかし特に START ドメインを持つタンパク質群が15ある一方 ORP, Sec14-like, PRELI-containing はそれぞれ4, 2, 1 遺伝子しか見出せず、START ドメインタンパク質が重要な働きをしていると考えられた。注目した11遺伝子のうち4遺伝子について高発現株と遺伝子発現抑制株が樹立され、2 遺伝子について組み換えタンパク質の精製のめどが立っている。今後各タンパク質の局在、細胞への機能、脂質結合活性の評価を行う。[Koushik Das, Ghulam Jeelani, 野崎智義]

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

EhRab8A は赤痢アメーバの食食に必要な細胞表面タンパク質の輸送に関与している。そこで、EhRab8A の GDP 結合不活性型/GTP 結合活性型変異株を用いて食食への影響を評価したところ、GTP 結合活性型変異株は食食効率が低下することを明らかになった。EhRab8A 発現抑制株も食食能が低下しており、EhRab8A が食食に重要な表面レセプター輸送に関与することを裏付けた。他種生物とは異なり EhRab8A の細胞内局在はエンドソーム系ではなく、小胞体であった。また、EhRab8A が輸送する表面レセプターの同定を目指し、免疫沈降法を用いて EhRab8A の結合タンパク質の同定を行ったところ、小胞体に局在する CDC50 フリッパーゼを同定した。よって、EhRab8A は小胞体脂質ドメインの制御を行いながら、表面タンパク質の選別と輸送を行っているモデルが考えられた。[花館有希(筑波大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

サ. 赤痢アメーバの膜輸送：食食における EhRab8A ホモログ EhRab8B の解析

EhRab8A と 55% のアミノ酸相同性を示す EhRab8B は、病原株では発現が観察されるが、非病原株では intron-retention が起きているためタンパク質の翻訳が行われず。非病原株で EhRab8B を大量発現させると、細胞障害性が回復することを発見した。そこで EhRab8B

の局在と機能を解析するために、EhRab8B のポリクロナル抗体の作製に着手した。また N 末端に myc タグを付加した EhRab8B の局在は、小胞体ではなく小さな小胞であった。現在、EhRab8B がどのように食食を制御するのかの解析を進めている。[花館有希(筑波大学)、中野由美子、中曽根英子、Felipe Fadilla-Vaca (Guanajuat 大学)、野崎智義]

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

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

ス. タンデムな GTPase ドメインを有する EhRabX3 の結合因子の同定

赤痢アメーバとその近縁種にのみ保存された EhRabX3 は Ras スーパーファミリーの GTPase と異なり、GTPase 活性ドメインをタンデムに有し、膜結合に必要な C 末端のシステインが欠質している。精製タンパク質を用いた生化学的性状では、EhRabX3 は、GTP 加水分解能が遅く、細胞内で GTP 型を取ると予測されている。細胞内で GTPase としての活性調節を行うためには、EhRabX3 特異的な GTPase 活性促進タンパク質の存在が不可欠であると考え、結合タンパク質の単離を試みた。その結果、膜融合の終了後に SNARE complex を解離させるのに必要な N-ethylmaleimide sensitive fusion protein (NSF) と

soluble NSF attachment protein (SNAP)を得た。よって、EhRabX3は従来のRabと異なり、SNAREによる膜融合の完了の後で機能すると考えられた。

[中野由美子、Mintu Chandra (インド)、中曽根英子、川野哲郎(筑波大学)、平井智浩(筑波大学)、花館有希(筑波大学)、Sunando Datta (インド)、野崎智義]

(5) マラリア原虫の肝内型・赤内型寄生病原学に係る解析

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

マラリア原虫は宿主細胞内でPVMを形成し、宿主と隔たりを設けることで寄生を成立させる。このPVMは原虫の宿主内生存に重要な役割を担うが、その形成に関する詳細な分子メカニズムの未だ明らかとなっていない。我々は、Loss-of-functionスクリーニング解析から、肝内型原虫に特異的な新規機能分子B9を見出した。b9欠損原虫株を用いた詳細な解析から、本変異株は肝内型原虫特異的に不完全なPVMを形成する表現型を示すことが明らかとなった。また様々な解析結果からb9は転写後制御により発現調節される分子であり、原虫 plasma membraneに局在する分子である事が明らかとなった。今後B9を中心に研究を展開することで、PVM形成に重要な分子メカニズムを明らかにする。

[案浦健、荒木球沙、荒井絢子、川上泰(麻布大学)]

イ. 肝内型マラリア原虫の宿主細胞内生存メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫は様々な免疫排除応答が可能な肝細胞を宿主として寄生することから、原虫はその応答を回避する巧妙な分子メカニズムが必要であると考えられるが、その詳細は明らかとなっていない。我々は、変異株スクリーニング実験から肝内型原虫の宿主内生存に重要な新規機能分子NG2を見出した。このNG2の機能を明らかにするため、今井・富井ら(産総研)と共に推定構造解析を行ったところ、NG2はトランスポーターである可能性が示された。NG2の詳細な機能解析を行うため、肝細胞での一過性の遺伝子発現が可能なDNAコンストラクトの作製を行った。今後、NG2の原虫細胞内局在性や輸送基質の同定を試みることで、肝内型原虫の宿主内生存

に果たすNG2の役割を明確にする。

[案浦健、荒木球沙、荒井絢子、今井賢一郎(産業技術総合研究所)、富井健太郎(産業技術総合研究所)]

ウ. 肝内型マラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫は宿主内に長期間留まる休眠期がある一方で、短期間で大量に次世代原虫を産生できる発育期でもあることから増殖を制御する分子メカニズムは極めて興味深い。その分子機構は未だほとんど明らかとなっていない。真核生物のヒストンメチル化修飾は、細胞増殖や様々な転写調節を司る分子メカニズムであり、マラリア原虫では発育期に応じて制御が異なる可能性が示唆されている。これまでに我々が詳細なin silico解析を実施したところ、ヒストンメチル化酵素9遺伝子、脱メチル化酵素4遺伝子は全てのマラリア原虫種において高度に保存されており、また一方で原虫種により特異的に欠損するヒストンメチル化酵素遺伝子と脱メチル化酵素遺伝子を見出す事に成功した。詳細なドメインサーチから、我々は新規推定ヒストンメチル化酵素遺伝子を見出しており、現在組み換えタンパク質の調整を開始しており、今後、酵素アッセイや本遺伝子変異株の作出を試みることでマラリア原虫の増殖におけるヒストンメチル化修飾が果たすメカニズムを明らかにする。

[案浦健、荒木球沙、浅井史敏(麻布大学)、川上泰(麻布大学)]

エ. 新たなマラリア感染in vivoモデル作出の試み

ヒトマラリアのin vivo感染モデルは、非常に限られた施設でしか行うことが出来ず研究開発は困難を強いられる。特に、韓国で再興感染症として猛威を振るバイバックスマラリアは、感染率が低く培養もできないことからin vivo感染モデルの研究開発は困難を極める。そこで本課題では、医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センターと連携することで、新たなマラリア感染in vivoモデル作出(特にハマダラカから様々な霊長類・原猿への感染モデル、自然に近い感染経路を模倣するモデルの作出)の実用化を試みる。現在までに本実験に適したハマダラカ株の系統維持に着手しており、実験開始に必要な質と数を担保できるよう調整している。

[案浦健、荒木球沙、荒井絢子、川合寛(独協医大)、保

富康宏 (医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター) ]

オ. 赤内型マラリア原虫の感染赤血球経への輸送機構の解析

赤血球の中に寄生するマラリア原虫は、感染赤血球に多くの抗原タンパク質を輸送するが、感染赤血球への抗原タンパク質の輸送機構は十分に解明されていない。真核生物の膜輸送の分子スイッチとして Rab GTPase が挙げられ、マラリア原虫を含むアピコンプレキサ門原虫には、N 末端側がアシル化された特殊な Rab5b GTPase が存在する。PfRab5b は寄生胞の感染赤血球側に輸送されることから、PfRab5b に制御される特殊な輸送経路の同定を目指し、共免疫沈降法による結合タンパク質の網羅的探索を試みた。その結果、ゴルジ体に局在するタンパク質の他、寄生胞に局在する ETRAMP ファミリーの膜タンパク質を同定した。よって PfRab5b はゴルジ体周辺から出芽して寄生胞に輸送する新規の経路を制御していると考えられた。[平井智浩(筑波大学)、海老根一生(東京大学)、野崎智義、中野由美子]

## 研修業務・審議会など

I. 平成27年度水道クリプトスポリジウム試験法実習(国立保健医療科学院主催)にて、水道原水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った(6月)。

[八木田健司、泉山信司]

II. 平成27年度 感染症検査技術研修会にて、マラリアについての講義を行った。(2015年6月12日、村山庁舎)

[案浦健、中野由美子]

III. Field Epidemiology Training Program (FETP) 初期研修に協力し、「性感染症としてのアメーバ赤痢と輸入感染症としてのマラリア」に関する講義を行った。(2015年4月19日、戸山庁舎) [中野由美子]

## 国際協力関係業務

3. 国際協力機構 (JICA) の研修コース「安全な血液確保による感染症予防」に協力して、マラリアの診断法について講義を行うとともに、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。

[案浦健、中野由美子]

## 発表業績一覧

I. 誌上发表

1. 原著論文、総説 (欧文)

Lee, Y. A., Saito-Nakano, Y., Kim, K. A., Min, A., Nozaki, T., Shin, M. H. Modulation of endogenous cysteine protease inhibitor (ICP) 1 expression in *Entamoeba histolytica* affects amoebic adhesion to extracellular matrix proteins. *Exp Parasitol.* 149C:7-15, 2014. doi: 10.1016/j.exppara.2014.12.001.

Emmanuel, M., Saito-Nakano, Y, Nozaki, T., and Datta, S. Small GTPase Rab21 mediates Fibronectin induced actin reorganization in *Entamoeba histolytica*: implications in pathogen invasion. *PLoS Pathog* 11(3):e1004666, 2015. doi: 10.1371/journal.ppat.1004666.

Santos, H. J.,\*, Imai, K.\*, Makiuchi, T., Tomii, K., Horton, P., Nozawa, A., Ibrahim, M., Tozawa, Y., and Nozaki, T. A novel mitochondrial  $\beta$ -barrel outer membrane protein in *Entamoeba*. *Sci Rep* 5:8545, 2015. doi: 10.1038/srep08545. (\* equal contribution)

Penuliar, G. M., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Phenotypic and transcriptional profiling in *Entamoeba histolytica* reveal costs to fitness and adaptive responses associated with metronidazole resistance. "Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy", *Front Microbiol.* 6:354, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00354. eCollection.

Picazarri, K.,\* Nakada-Tsukui, K.,\* Tsuboi, K., Miyamoto, E., Watanabe, N., Kawakami, E., and Nozaki, T. Atg8 is involved in endosomal and phagosomal acidification in the parasitic protist *Entamoeba histolytica*. *Cell Microbiol* 17, 1510-1522, 2015 (\* equal contribution) doi: 10.1111/cmi.12453

- Mi-ichi, F., # Miyamoto, T., Takao, S., Jeelani, G., Hashimoto, T., Hara, H., Nozaki, T., # and Yoshida, H. *Entamoeba* mitosomes play an important role in encystation by association with cholesteryl sulfate synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 112(22):E2884–90, 2015. doi: 10.1073/pnas.1423718112. (# correspondence) pii: 201423718.
- Takeuchi, F., Sekizuka, T., Ogasawara, Y., Yokoyama, H., Kamikawa, R., Inagaki, Y., Nozaki, T., Sugita-Konishi, T., Ohnishi, T., and Kuroda, M. The mitochondrial genomes of a myxozoan genus *Kudoa* are extremely divergent in Metazoa. *PLoS ONE* 10(7):e0132030, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0132030. eCollection 2015.
- Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., and Kuroda, M. Development of nucleotide sequence typing for *Kudoa septempunctata*, a flounder parasite causing foodborne disease. *J Fish Dis* 39:667–72, 2015. doi:10.1111/jfd.12395..
- Mishra, V., Kumar, A., Ali, V., Zhang, K.Y., and Nozaki, T. Characterization of pH-induced transitions of *Entamoeba histolytica* D-phosphoglycerate dehydrogenase. *Int J Biol Macromol.* 2015 79:284–289. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.04.058. [Epub ahead of print]
- Verma, K., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T., and Datta, S. Insights into endosomal maturation of human holo-transferrin in the enteric parasite *Entamoeba histolytica*: essential roles of Rab7A and Rab5 in biogenesis of giant early endocytic vacuoles. *Cell Microbiol.* 17(12):1779–1796, 2015. doi: 10.1111/cmi.12470.
- Mori, M., Jeelani, G., Masuda, Y., Sakai, K., Nakada-Tsukui, K., Waluyo, D., Tarwadi, Watanabe, Y., Nonaka, K., Matsumoto, A., Omura, S., Nozaki, T.#, and Shiomi, K.# Identification of natural inhibitors of *Entamoeba histolytica* cysteine synthase from microbial secondary metabolites. *Front Microbiol.* 6, 962, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00962 (# correspondence)
- Chiba, Y., Kamikawa, R., Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., and Nozaki, T. Discovery of PPI-type phosphoenolpyruvate carboxykinase genes in eukaryotes and bacteria. *J Biol Chem* 290, 23960–23970, 2015. doi: 10.1074/jbc.M115.672907
- Mi-ichi, F.\*, Nozawa, A.\*, Yoshida, H., Tozawa, Y.#, Nozaki, T.# Evidence that *Entamoeba histolytica* mitochondrial carrier family links mitochondrial and cytosolic pathways through exchange of PAPS and ATP. *Eukaryot Cell* 14(11):1144–1150, 2015 (\*Equal first authors; #Double correspondence) doi: 10.1128/EC.00130–15.
- Srivastava, V. K., Chandra, M., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T., Datta, S. Crystal structure analysis of wild type and fast hydrolyzing mutant of EhRabX3, a tandem Ras superfamily GTPase from *Entamoeba histolytica*. *J Mol Biol.* 428(1):41–51, 2015 Nov 7. pii: S0022-2836(15)00624-5. doi: 10.1016/j.jmb.2015.11.003.
- Santos, H. J., Imai, K., Hanadate, Y., Fukasawa, Y., Oda, T., Mi-ichi, F., and Nozaki, T. Screening and discovery of lineage-specific mitochondrial membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 209(1–2):10–17, 2016. doi: 10.1016/j.molbiopara.2016.01.001.
- Jeelani, G. and Nozaki, T. *Entamoeba* thiol-based redox metabolism: a potential target for drug development. *Mol. Biochem. Parasitol.* 207(2):56–60, 2016. doi: 10.1016/j.molbiopara.2016.01.004.
- Pineda, E., Vázquez, C., Encalada, R., Nozaki, T., Sato, E., Hanadate, Y., Néquiz, M, Olivos-García, A., Moreno-Sánchez, R., Saavedra, E. Roles of acetyl-CoA synthetase (ADP-forming) and acetate kinase (PPI-forming) in ATP and PPI supply in *Entamoeba histolytica*. *Biochim. Biophys. Acta*

- 1860(6):1163-1172, 2016. doi: 10.1016/j.bbagen.2016.02.010.
- Yamaguchi H, Matsuo J, Yamazaki T, Ishida K, Yagita K, Draft Genome Sequence of High-Temperature-Adapted Protochlamydia sp. HS-T3, an Amoebal Endosymbiotic Bacterium Found in *Acanthamoeba* Isolated from a Hot Spring in Japan. *Genome Announc.* 3(1). pii: e01507-14. doi: 10.1128/genomeA.01507-14. 2015
- Itoh K, Yagita K, Nozaki T, Katano H, Hasegawa H, Matsuo K, Hosokawa Y, Tando S, Fushiki S, An autopsy case of *Balamuthia mandrillaris* amoebic encephalitis, a rare emerging infectious disease, with a brief review of the cases reported in Japan. *Neuropathology* 35(1):64-9, 2015
- Kobayashi S, Tsukadaira A, Kobayashi S, Izumiyama S, Yoon HS. Amoebic encephalitis in a farmer. *Pathology.* 47(7), 720-722, 2015.
- Rahman M, Alauddin M, Hossain KM, Islam MH, Kitoh K, Nagamune K, Takashima Y, Prevalence and dynamics of antibodies against *Toxoplasma gondii* in kids born from naturally infected goats. *Parasitol. Int.* 64 (5), 389-391, 2015
- Bhat HB, Ishitsuka R, Inaba T, Murate M, Abe M, Makino A, Kohyama-Koganeya A, Nagao K, Kurahashi A, Kishimoto T, Tahara M, Yamano A, Nagamune K, Hirabayashi Y, Jyuni N, Umeda M, Fujimori F, Nishibori K, Yamaji-Hasegawa A, Greimel P, Kobayashi T, Evaluation of aegerolysins as novel tools to detect and visualize ceramide phosphoethanolamine, a major sphingolipid in invertebrates." *FASEB J.* 29 (9), 3920-34, 2015
- Matsubara R, Aonuma H, Kojima M, Tahara M, Andrabi SBA, Sakakibara H, Nagamune K, Plant Hormone Salicylic Acid Produced by a Malaria Parasite Controls Host Immunity and Cerebral Malaria Outcome. *PLoS ONE* 10 (10), e0140559, 2015
- Ybañez RH, Leesombun A, Nishimura M, Matsubara R, Kojima M, Sakakibara H, Nagamune K, Nishikawa Y, *In vitro* and *in vivo* effects of the phytohormone inhibitor fluridone against *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Int.* 65 (4), 319-322, 2016
- Tahara M, Andrabi SBA, Matsubara R, Aonuma H, Nagamune K, A host cell membrane microdomain is a critical factor for organelle discharge by *Toxoplasma gondii*. *Parasitol. Int.* 65 (5), 378-388, 2016
- Lim PKC, Yamasaki H, Mak JW, Wong SF, Chong CW, Yap IKS, Ambu S, Kumarasamy V. Field evaluation of a rapid diagnostic test to detect antibodies in human toxocariasis. *Acta Trop.* 148:32-37, 2015.
- Weitzel T, Sugiyama H, Yamasaki H, Ramirez C, Rosas R, Mercado R, Human infections with *Pseudoterranova cattani* nematodes, Chile. *Emerg Infect Dis*, 21, 1874-1875, 2015.
- Takamiya S., Hashimoto M., Mita T., Yokota T., Nakajima Y., Yamakura F., Sugio S., Fujimura T., Ueno T., Yamasaki H. Bioinformatic identification of cytochrome *b<sub>5</sub>* homologues from the parasitic nematode *Ascaris suum* and the free-living nematode *Caenorhabditis elegans* highlights the crucial role of *A. suum* adult-specific secretory cytochrome *b<sub>5</sub>* in parasitic adaptation. *Parasitol Int*, 65:113-120, 2015.
- Sugiyama H, Shibata K, Arakawa K, Morishima Y, Yamasaki H, Gokudan M, Iwakiri T, Fukumori J, Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: Contamination levels of lung fluke larvae in muscle samples of wild boars caught in the Kagoshima Prefecture. *Jpn J Infect Dis*, 68, 536-537, 2015.
- Singh TS, Sugiyama H, Devi KR, Singh WA, First case of *Paragonimus westermani* infection in a female patient in India. *Indian J Med Microbiol*, 33 (Suppl), 156-159, 2015.
- Hayashi K, Ichikawa-Seki M, Mohanta UK, Singh TS, Shoriki T, Sugiyama H, Itagaki T. Molecular phylogenetic analysis of *Fasciola* flukes from eastern India. *Parasitol Int*, 64, 334-338, 2015.
- Li J, Zhao GH, Lin R, Blair D, Sugiyama H, Zhu XQ, Rapid detection and identification of four major *Schistosoma* species by high-resolution melt (HRM) analysis. *Parasitol Res*, 114, 4225-4232, 2015.
- Li J, Chen F, Sugiyama H, Blair D, Lin RQ, Zhu XQ, A specific indel marker for the Philippines *Schistosoma japonicum* revealed by analysis of mitochondrial genome sequences. *Parasitol Res*, 114, 2697-2704, 2015.

- Chen F, Li J, Sugiyama H, Zhou DH, Song HQ, Zhao GH, Zhu XQ, Genetic variability among *Schistosoma japonicum* isolates from the Philippines, Japan and China revealed by sequence analysis of three mitochondrial genes. *Mitochondrial DNA*, 26, 35-40, 2015.
- Sanpool O, Intapan PM, Thanchomngam T, Janwan P, Laymanivong S, Sugiyama H, Maleewong W, Morphological and molecular identification of a lung fluke, *Paragonimus macrorchis* (Trematoda, Paragonimidae), found in central Lao PDR and its molecular phylogenetic status in the genus *Paragonimus*. *Parasitol Int*, 64, 513-518, 2015.
- Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H, Tomizawa R, Sato R, Ohnishi M, Comparison of bacterial burden and cytokine gene expression in golden hamsters in early phase of infection with two different strains of *Leptospira interrogans*. *PLoS One*, 10(7):e0132694, 1-16, 2015.
- Calvopina, M., Cevallos, W., Atherton, R., Saunders, M., Small, A., Kumazawa, H., Sugiyama, H. High prevalence of the liver fluke *Amphimerus* sp. in domestic cats and dogs in an area for human amphimeriasis in Ecuador. *PLoS Negl Trop Dis*, 9(2):e0003526, 1-9, 2015.
- Rijpma SR, van der Velden M, González-Pons M, Annoura T, van Schaijk BC, van Gemert GJ, van den Heuvel JJ, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, Ploemen IH, Khan SM, Franetich JF, Mazier D, de Wilt JH, Serrano AE, Russel FG, Janse CJ, Sauerwein RW, Koenderink JB, Franke-Fayard BM. Multidrug ABC transporters are essential for hepatic development of *Plasmodium* sporozoites. *Cell Microbiol*. Mar;18(3):369-83. 2016.
- Lin JW, Spaccapelo R, Schwarzer E, Sajid M, Annoura T, Deroost K, Ravelli RB, Aime E, Capuccini B, Mommaas-Kienhuis AM, O'Toole T, Prins F, Franke-Fayard BM, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, Kroeze H, Koster AJ, Tanke HJ, Crisanti A, Langhorne J, Arese P, Van den Steen PE, Janse CJ, Khan SM. Replication of *Plasmodium* in reticulocytes can occur without hemozoin formation, resulting in chloroquine resistance. *J Exp Med*. Jun 1;212(6):893-903. 2015.
- De Niz M, Helm S, Horstmann S, Annoura T, Del Portillo HA, Khan SM, Heussler VT. *In vivo* and *in vitro* characterization of a *Plasmodium* liver stage-specific promoter. *PLoS One*. Apr 15;10(4):e0123473. 2015.
- Hanadate Y, Saito-Nakano Y, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Endoplasmic reticulum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol*. Jan 25. 2016.
2. 原著論文、総説 (和文)
- 野崎智義 動物との接触・飲料水等を介した寄生虫症 in 野外活動と感染症 化学療法の領域、医薬ジャーナル 31 (5) , pp800-807, 2015
- 野崎智義 寄生虫 (赤痢アメーバ症) 感染制御の最前線 救急領域のベストプラクティス IV 感染制御に注意を要する病原体 緊急医学 へるす出版 39(10), 1404-1405, 2015.
- 有阪高洋、河合覚、津久井久美子、野崎智義、平石秀幸、千種雄一 大腸内視鏡検査により診断のついたアメーバ大腸炎一例 *Clin Parasitol* 26 (1), 100-103, 2015.
- 野崎智義 赤痢アメーバ感染症-オルガネラ進化の多様性をみせるすばらしき生物モデル-感染症 Hot Topics ~新興再興感染症を中心に 感染症 いま何が起きているのか 33(17), 2752-2756, 2015、実験医学 羊土社
- 牧内貴志、野崎智義 ミトコンドリアの多様な進化— 赤痢アメーバマイトソームから見えるミトコンドリアのタンパク質輸送と代謝の進化 真核細胞の共生由来オルガネラ研究最前線 広がり続ける多様性と機能 70(2), 93-98, 2016、生物の科学 遺伝 エヌ・ティー・エス
- 松原立真、永宗喜三郎 アピコンプレクサ生物におけるカルシウム・シグナリングと植物ホルモン、 化学療法の領域 32: 117-126、2016
- 松原立真、永宗喜三郎 アピコンプレクサ類のもつ植物様オルガネラと植物ホルモン -オルガネラ進化学から考える感染症対策、遺伝 70:99-104、2016

- 山崎 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 齋藤典子, 土田孝信, 関川喜之, 織田錬太郎, 本郷偉元. イルカ裂頭条虫 *Diphyllobothrium stemmacephalum* による人体寄生例. *Clinical Parasitology* 26:121-124, 2015.
- 保科斉生, 李 広烈, 中拂一彦, 河野真二, 清水昭宏, 保坂由美子, 佐藤文哉, 堀野哲也, 中澤 靖, 熊谷正広, 山崎 浩. 台湾での感染が疑われたアジア条虫の1例. *Clinical Parasitology* 26:117-120, 2015.
- 杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 賀川千里, 森嶋康之, 山崎 浩, 大前比呂思. 我が国の肺吸虫症の症状と診断根拠: 症例報告からの解析. *Clinical Parasitology* 26:65-67, 2015.
- 森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩. レセプトデータを用いた蟯虫症発生数の推定. *Clinical Parasitology* 26:43-45, 2015.
- 吉田猛敏, 柴田勝優, 杉山 広, 川上 泰, 荒木 潤, 森嶋康之, 山崎 浩. サンマにおけるアニサキス虫体の寄生状況調査. *Clinical Parasitology* 26:13-16, 2015.
- 杉山 広, 荒川京子, 柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山崎 浩, 荒木 潤, 生野 博, 朝倉 宏. わが国における土壌媒介寄生中症, 特に回虫症の発生とその汚染源の文献的および検査期間データに基づく調査, *食品衛生研究*, 65, 37-41, 2015.
- 堀内朗子, 荒川京子, 秋庭達也, 吉田建介, 平田史子, 松本奈保子, 丸山弓美, 奥津敬右, 朝倉 宏, 杉山 広, ストマッカーを利用した野菜等の回虫卵検査法の検討, *食品衛生研究*, 65, 45-50, 2015.
- 林 亮, 菅井恭平, 楊 寛隆, 佐藤 孝, 阿保亜紀子, 菅井 有, 増田友之, 千種雄一, 杉山 広. 直腸癌の術後経過観察中にみられた肝アニサキス症の1例, *Clinical Parasitology* 26, 20-23, 2015.
- 常盤俊大, 中村翔平, 平 健介, 杉山 広, 吉川泰弘, 宇根有美, エキゾチックアニマルと動物由来感染症 - キンカジュウと回虫 -, *獣畜新報*, 68, 267-269, 2015.
3. 書籍 (英文)
- Ghulam Jeelani, Dan Sato, and Tomoyoshi Nozaki. Metabolomic analysis of *Entamoeba* biology. In "Amebiasis: Biology and Pathogenesis of *Entamoeba*" Edited by Tomoyoshi Nozaki and Alok Bhattacharya. pp 331-349, Springer, 2015, ISBN 978-4-431-55199-7.
- Takashi Makiuchi, Fumika Mi-ichi, and Tomoyoshi Nozaki. Mitosomes in *Entamoeba histolytica*. In "Amebiasis: Biology and Pathogenesis of *Entamoeba*" Edited by Tomoyoshi Nozaki and Alok Bhattacharya. pp 305-327, Springer, 2015, ISBN 978-4-431-55199-7.
- Kumiko Nakada-Tsukui, and Tomoyoshi Nozaki. Molecular basis of the trafficking of cysteine proteases and other soluble lysosomal proteins in *Entamoeba histolytica*. In "Amebiasis: Biology and Pathogenesis of *Entamoeba*" Edited by Tomoyoshi Nozaki and Alok Bhattacharya. pp 279-304, Springer, 2015, ISBN 978-4-431-55199-7.
3. 書籍 (和文)
- 泉山信司, 八木田健司, 消化管寄生性原虫類の検査法、食品衛生検査指針 2015 微生物編より pp. 777-790, 日本食品衛生協会、2015 年 3 月
- 八木田健司, 泉山信司, 組織内寄生性原虫類、食品衛生検査指針 2015 微生物編より pp. 805-808. 日本食品衛生協会、2015 年 3 月
- II. 学会発表
1. 国際学会
- Nagamune K, Yamano A, Fukumoto J, Tahara M, Matsubara R, Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* isolated in Japan. 13th International Congress on Toxoplasmosis and *Toxoplasma gondii* Research, Gettysburg, PA, June 2015
- Matsubara R, Nagamune K, Functional analysis of Apicomplexa-producing plant hormone. Molecular Parasitology Meeting XXVI, Woods Hole, MA, USA, September 2015
- Fukumoto J, Sakura T, Matsubara R, Nagamune K, Investigation for the Understanding of the

- Mechanism of Host Organelle Recruitment by *Toxoplasma gondii*. 2nd International Symposium and 4th Annual Research Meeting on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, Tsukuba, September 2015
- Matsubara R, Sakura T, Nagamune K, Searching for IP<sub>3</sub> and Ryanodine receptor like proteins of *Toxoplasma gondii*. 2nd International Symposium and 4th Annual Research Meeting on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, Tsukuba, September 2015
- Ihara F, Nishimura M, Mahmoud ME, Muroi Y, Yokoyama N, Nagamune K, Nishikawa Y, *Toxoplasma gondii* infection in mouse impairs long-term fear memory consolidation and downregulates Arc expression. 2nd International Symposium and 4th Annual Research Meeting on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, Tsukuba, September 2015
- Nozaki, T. Metabolism, pathogenesis, and unique organelles in the enteric protozoon *Entamoeba histolytica*. The 44<sup>th</sup> Annual Convention and Scientific Meeting of the Philippine Society for Microbiology. July 16-17, 2015, Pasay City, The Philippines. (Plenary lecture)
- Somlata, Kumiko Tsukui, Kentaro Tomii, Tomoyoshi Nozaki, Analyzing role of BAR domain proteins in *Entamoeba histolytica*. XVIII International Seminar on Amebiasis 2015 2015.10.13-16, Campeche, Mexico
- Yuki Hanadate, Yumiko Saito-Nakano, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki. Endoplasmic reticulum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* XVIII International Seminar on Amebiasis 2015 2015.10.13-16, Campeche, Mexico
- Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta, Dar-der Ji, Makoto Kuroda, and Tomoyoshi Nozaki. Identification of an AIG1 gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates. XVIII International Seminar on Amebiasis 2015. 2015.10.13-16, Campeche, Mexico
- Srivastava VK, Chandra M, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Datta S. Crystal structure analysis of wild-type and fast hydrolyzing mutant of EhRabX3, a tandem Ras superfamily GTPase from *Entamoeba histolytica*. XVIII International Seminar on Amebiasis 2015. Oct. 13-16, Campeche, Mexico.
- Valdés J, Nozaki T, Sato E, Chiba Y, Nakada-Tsukui K, Villegas-Sepúlveda N, Winkler R, Azuara-Liceaga E, Mendoza-Figueroa MS, Watanabe N, Santos HJ, Saito-Nakano Y, Galindo-Rosales JM. Proteomic analysis of *Entamoeba histolytica* *in vivo* assembled pre-mRNA splicing complexes. XVIII International Seminar on Amebiasis 2015. Oct. 13-16, Campeche, Mexico.
- Amidou Samie, Patricia Theko Ramollo, Tomoyoshi Nozaki. Antimicrobial activity of Selected Venda medicinal plants against *Entamoeba moshkovskii* and their immunomodulatory against *Entamoeba moshkovskii* and their immunomodulatory effect on Interleukin 6. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.
- Takashi Makiuchi, Herbert J. Santos, Tomoyoshi Nozaki, Hiroshi Tachibana. Analysis of the fission mechanism of mitosomes in *Entamoeba histolytica*. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.
- Ghulam Jeelani, Yoko Chiba, Tomoyoshi Nozaki. Exploring the polyamine pathway in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.
- Herbert J. Santos, Ghulam Jeelani, Mihoko Mori, Kazuro Shiomi, and Tomoyoshi Nozaki. Screening of microbial metabolites for inhibitors of cysteine biosynthesis pathway in *Entamoeba histolytica*. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.
- Tomoyoshi Nozaki. Endoplasmic reticulum-resident

- Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 18<sup>th</sup> International Conference on Emerging Infectious Diseases, The U.S. - Japan Cooperative Medical Sciences Program, Bethesda, U.S.A., January 13-14, 2016.
- Kumiko Nakada-Tsukui, Conservation and uniqueness of the lysosome traffic in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 25th Annual Molecular Parasitology/Vector Biology Symposium, 2015. 4. 29-28, UGA Hotel and Conference Center, Athens, GA
- Annoura T, van Schaijk BC, Ploemen IH, Sajid M, Lin JW, Vos MW, Dinmohamed AG, Inaoka DK, Rijpma SR, van Gemert GJ, Chevalley-Maurel S, Kiełbasa SM, Scheltinga F, Franke-Fayard B, Klop O, Hermsen CC, Kita K, Gego A, Franetich JF, Mazier D, Nozaki T, Hoffman SL, Janse CJ, Sauerwein RW, Khan SM. New members of the Plasmodium 6-Cys family-related proteins have distinct and critical roles in liver stage development. 26th Annual Molecular Parasitology/Vector Biology Symposium. 2015. April. 28-29, Athens, Georgia. USA.
- Annoura T, van Schaijk BC, Ploemen IH, Sajid M, Lin JW, Vos MW, Dinmohamed AG, Inaoka DK, Rijpma SR, van Gemert GJ, Chevalley-Maurel S, Kiełbasa SM, Scheltinga F, Franke-Fayard B, Klop O, Hermsen CC, Kita K, Gego A, Franetich JF, Mazier D, Nozaki T, Hoffman SL, Janse CJ, Sauerwein RW, Khan SM. New members of the Plasmodium 6-Cys family-related proteins have distinct and critical roles in liver stage development. 2nd International Symposium Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells. 2015. Sept. 30.- Oct. 2, Tsukuba, Japan.
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
- 松原立真、佐倉孝哉、永宗喜三郎、トキソプラズマの IP<sub>3</sub>・リアノジンレセプター様タンパク質の探索、第 48 回日本原生生物学会大会、2015 年 11 月、東京
- 永宗喜三郎、山野安規徳、福本隼平、喜屋武向子、正谷達膳、松尾智英、松井利博、村上麻美、高島康弘、佐倉孝哉、松原立真、日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性、第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会、2015 年 12 月、神戸
- 高島康弘、川原史也、永宗喜三郎、戸田なつき、鬼頭克也、実験感染ニワトリにおける抗トキソプラズマ抗体の産生状況、第 85 回日本寄生虫学会大会、2016 年 3 月、宮崎
- 喜屋武向子、高良武俊、岡野祥、永宗喜三郎、沖繩県におけるトキソプラズマ感染実態調査と感染要因の推定、第 85 回日本寄生虫学会大会、2016 年 3 月、宮崎
- 永宗喜三郎、Plant hormones and apicomplexan parasites、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月、大阪
- 八木田 健司、内田雄治、国産重種馬肉喫食における *Sarcocystis fayeri* の定量的汚染調査 2012-2013、第 84 回日本寄生虫学会大会、2015 年 3 月、東京
- 泉山信司、木下一美、村上裕子、八木田健司、クリプトスポリジウム等耐塩素性微生物による集団感染の発生動向、日本水道協会水道研究発表会、2015 年 10 月、さいたま市
- 小林華奈子、水野聰、庭山秀一、川瀬悦郎、泉山信司、高藤俊、松島有希子、山口恵司、飲料水兼用耐震性貯水槽の衛生管理を目的とした従属栄養細菌数の活用、日本水道協会水道研究発表会、2015 年 10 月、さいたま市
- 泉山信司、木下一美、村上裕子、八木田健司、クリプトスポリジウム症およびジアルジア症の国内発生動向、第 84 回日本寄生虫学会、2015 年 3 月、東京都
- 福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて、第 23 回分子寄生虫学ワークショップ・第 13 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2015 年 8 月、帯広
- 永宗喜三郎、山野安規徳、福本隼平、喜屋武向子、正谷達膳、松尾智英、松井利博、村上麻美、高島康弘、佐倉孝哉、松原立真、日本におけるトキソプラズマ

の分子系統と病原性の解析、第 23 回分子寄生虫学ワークショップ・第 13 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2015 年 8 月、帯広

福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて、第 48 回日本原生生物学会大会、2015 年 11 月、東京

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

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

福本隼平、佐倉孝哉、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて、第 85 回日本寄生虫学会大会、2016 年 3 月、宮崎  
大橋 拓未、稲岡 ダニエル 健、小松谷 啓介、Balogun Emmanuel O.、Eri Amalia、山下 哲生、志波 智生、佐藤 暖、野崎 智義、原田 繁春、北 潔、マラリア原虫のミトコンドリア型 Type II NADH dehydrogenase の生化学的解析及び新規阻害剤の探索、第 85 回日本寄生虫学会大会、宮崎、March 19-20, 2016.

見市 文香、野澤 彰、吉田 裕樹、戸澤 謙、野崎 智義、赤痢アメーバ“マイトソーム”の PAPS 輸送体の同定、第 85 回日本寄生虫学会大会、宮崎、March 19-20, 2016.

牧内 貴志、Santos Herbert J.、野崎 智義、橘 裕司、赤痢アメーバの特殊化ミトコンドリアにおける分裂機構の解析、第 85 回日本寄生虫学会大会、宮崎、March 19-20, 2016.

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Tomohiko Maehama, Kumiko Nakada-Tsukui Phosphoinositide metabolism and unique localization of phosphatidylinositol 4-phosphate in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* Signalling 2015: Cellular functions of phosphoinositides and inositol phosphates 新学

術領域研究マトリョーシカ型進化原理、第 2 回国際シンポジウム・第 4 回マトリョーシカ型生物学研究会 2015 年 9 月 茨城県

Kumiko Nakada-Tsukui, Konomi Marumo, Kentaro Tomii, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Tomoyoshi Nozaki Conservation and uniqueness of the lysosomal targeting system in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理、第 2 回国際シンポジウム・第 4 回マトリョーシカ型生物学研究会 2015 年 9 月 茨城県

Kumiko Nakada-Tsukui, Konomi Marumo, Kentaro Tomii, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Tomoyoshi Nozaki Conservation and uniqueness of the lysosomal targeting system in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. プロテイン・アイランド・松山 国際シンポジウム 2015 若手の会 2015 年 9 月 愛媛県

Natsuki Watanabe, Tomohiko Maehama, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui, Phosphoinositide metabolism and unique localization of phosphatidylinositol 4-phosphate in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* Signalling 2015: Cellular functions of phosphoinositides and inositol phosphates 2015. 9. 1-5, Cambridge, UK

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子、赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体ファミリーの組織侵入への関与 第 23 回分子寄生虫学ワークショップ第 13 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2015 年 8 月帯広市

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義 赤痢アメーバ原虫におけるオートファジー遺伝子遺伝子 Atg8 の解析 第 67 回日本細胞生物学会大会 2015 年 6 月東京都

渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義、津久井久美子 寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* におけるホスファチジルイノシトールシグナルの解析 第 67 回細胞生物学会 2015 年 6 月東京都

渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義、津久井久美子 赤痢

## 寄生動物部

アメーバにおけるホスファチジルイノシトールシグナルの解析 第57回脂質生化学会 2015年5月 東京

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、赤痢アメーバ原虫におけるAtg5-12/16複合体の同定 第85回日本寄生虫学会大会 2016年3月 宮崎市

津久井久美子 赤痢アメーバにおけるAtg5-12/16複合体の同定 新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理 H27年度全体班会議 2016年1月 東京都

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、赤痢アメーバ原虫におけるAtg5-Atg12遺伝子の同定 第39回日本分子生物学会年会・第89回日本生化学会大会合同大会 2015年12月兵庫県

渡辺菜月 腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* におけるAtg5-12複合体の解析とAtg8により制御される貪食胞成熟化に関わる分子機構の探索 第9回オートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議 2015年11月1兵庫県

宮本絵梨 腸管寄生性原虫赤痢アメーバAtg8結合タンパク質の解析 オートファジー班会議 絵梨第9回オートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議 2015年11月兵庫県

津久井久美子 赤痢アメーバ原虫における独特なAtg8機能と制御 第9回オートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議 2015年11月兵庫県

杉山 広. 食品安全行政から見た寄生虫対策について. 平成27年度 食品安全行政講習会. 東京, 2015年5月11日.

杉山 広. 寄生虫に関する食品衛生上の話題とその対策. 平成27年度愛知県食品衛生監視員研修会. 名古屋, 2015年5月29日.

山崎 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 土田孝信, 関川喜之, 織田 錬太郎, 本郷 偉元. イルカ裂頭条虫 *Diphyllobothrium stemmacephalum* によると考えられた人体寄生例. 第26回日本臨床寄生虫学会. 宇都宮市. 2015年6月20日.

保坂由美子, 佐藤文哉, 堀野哲也, 中澤 靖, 熊谷正広, 山崎 浩. 台湾での感染が疑われたアジア条虫症の1例. 第26回日本臨床寄生虫学会. 宇都宮市. 2015年6月20日.

山田 稔, 赤尾信明, 山崎 浩, 丸山治彦. 異物病理画像デジタルアーカイブの構築. 第26回日本臨床寄生虫学会. 宇都宮市. 2015年6月20日.

吉田猛敏, 柴田勝優, 杉山 広, 川上 泰, 荒木 潤, 森嶋康之, 山崎 浩. サンマにおけるアニサキス虫体の寄生状況. 第26回日本臨床寄生虫学会. 宇都宮市. 2015年6月20日.

森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩. レセプトデータを用いた蟯虫症発生数の推定. 第26回日本臨床寄生虫学会. 宇都宮市. 2015年6月20日.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 賀川千里, 森嶋康之, 山崎 浩, 大前比呂思. 我が国の肺吸虫症の症状と診断根拠: 症例報告からの解析. 第26回日本臨床寄生虫学会. 宇都宮市. 2015年6月20日.

柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山崎 浩, 杉山 広. 鹿児島県のウェステルマン肺吸虫流行地における中間宿主カニのメタセルカリア寄生状況調査. 第75回日本寄生虫学会東日本支部大会. 東京・御茶ノ水. 2015年9月26日.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山崎 浩, 熊澤秀雄, マヌエル・カルボピーニャ. エクアドルで人体症例の原因となる肝吸虫 *Amphimerus* sp. に関する検討. 第75回日本寄生虫学会東日本支部大会. 東京・御茶ノ水. 2015年9月26日.

杉山 広. 過去に学ぶ食文化の誤認. 日本食品衛生学会 第18回 特別シンポジウム. 東京, 2015年10月1日.

杉山 広. 食中毒としての食品媒介寄生虫症: 現状と検査の課題. 第36回日本食品微生物学会学術総会. 川崎, 2015年11月16日.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山崎 浩, 熊澤秀雄, カルボピーニャ・マヌエル. エクアドルで人体症例の原因となる肝吸虫 *Amphimerus* sp. に関する検討. 日本獣医臨床寄生虫学会大会, 東京, 2015年12月19日.

杉山 広. 寄生虫性食中毒: 日本の実態と対応. 平成27年度食品衛生危機管理研修. 和光, 2016年2月1日.

杉山 広. 寄生虫性食中毒: 日本の実態と対応. 平成27年度食品衛生危機管理研修. 和光, 2016年2月1日.

杉山 広. 寄生虫性食中毒: 日本の実態と対応. 平成27年度食品衛生危機管理研修. 和光, 2016年2月1日.

## 寄生動物部

- 杉山 広. アニサキスによる食中毒. 第 55 回日本感染性腸炎学会総会. 東京, 2016 年 3 月 12 日.
- 杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 御供田睦代, 森嶋康之, 山崎 浩. シカ肉の生食が原因と推定される肺吸虫症に関する調査. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-20 日.
- 高宮信三郎, 橋本宗明, 山崎 浩, 美田敏弘. 分泌型シトクロム b5 の寄生線虫類における分布. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.
- 森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩, 八木欣平, 福本真一. 非流行地におけるエキノコックス症動物疫学調査の問題点. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.
- 八木欣平, 奥祐三郎, 浦口宏二, 孝口裕一, 山野公明, 入江隆夫, 野中成晃, 福本真一郎, 森嶋康之, 小林文夫, 神谷正男, 吉川泰弘. 北海道のエキノコックス症媒介動物対策. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.
- 福本真一郎, 山田清太郎, 豊田章一郎, 西川友貴, 伏木田真人, 樋口豪紀, 植田弘美, 上野弘志, 森嶋康之, 杉山 広. 北海道の建物内での感染が示唆されたドブネズミ多包虫症例について. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.
- 山崎 浩, 熊澤秀雄, 斉藤典子, 森嶋康之, 杉山 広. Molecular evidence for the invalidity of *Diphyllbothrium yonagoense* as a species. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.
- 中野由美子, Mintu Chandra, 中曾根英子, 川野哲郎, 平井智浩, 花館有希, Sunando Datta, 野崎智義. 寄生原虫赤痢アメーバに保存したタンデムな GTPase ドメインを有する EhRabX3 の機能解析. 第 67 回日本細胞生物学会大会. 2015 年 6 月 30 日-7 月 2 日. 東京.
- 花館有希, 津久井久美子, 野崎智義, 中野由美子. 赤痢アメーバのER局在Rab8A GTPaseが制御する表面タンパク質輸送. 分子寄生虫学マラリアワークショップ. 2015年8月30日-9月2日. 帯広.
- 川野哲郎, 中野由美子, Gil M. Penuliar, 野崎智義. 赤痢アメーバの病原性に関する Rab11B とそのエフェクタータンパク質の解析. 第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会 合同大会. 2015年12月1日-4日. 神戸.
- 海老根一生, 平井智浩, 平井誠, 坂口美亜子, 矢幡一英, 金子修, 野崎智義, 中野由美子. マラリア原虫の Rab5b GTPaseは寄生胞膜の感染赤血球側に運ばれる. 第85回日本寄生虫学会大会. 2016年3月19日-20日. 宮崎.
- 案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 浅井 史敏, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 肝内型マラリア原虫と宿主の“闘ぎ合い”生物学の解明にむけて・・・. 第23回分子寄生虫学ワークショップ/第13回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2015年8月30日-9月2日. 帯広畜産大学・原虫病研究センター.
- 案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 浅井 史敏, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 細胞内・寄生原虫による“宿主ハイジャック生物学”の解明. 第9回細菌学若手コロッセウム. 2015年11月23日-11月25日. KKR ホテル敬天閣.
- 案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 浅井 史敏, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 肝内型マラリア原虫-宿主間“闘ぎ合い”分子メカニズムの解明. BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会). 2015年11月30日-12月4日. 神戸ポートピアホテル.
- 案浦 健, Fonager J., Braks JA., Klop O., Janse CJ., Khan SM., Franke-Fayard B. 肝内型マラリア原虫における分泌タンパク質:(細胞内局在性の変化と発現バリエーションシフト. 文部科学省新学術領域研究(領域提案型)「マトリョーシカ型進化原理」平成27年度全体班会議・研究報告会. 2016年1月9日-1月10日. 東海大学(高輪キャンパス).
- 津久井久美子, 宮本絵梨, 渡辺菜月, 柴田久美子, 野崎智義, 赤痢アメーバ原虫におけるAtg5-12/16複合体の同定. 第85回日本寄生虫学会大会. 2016年3月. 宮崎市.
- 津久井久美子. 赤痢アメーバにおけるAtg5-12/16複合体の同定. 新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理 H27年度全体班会議. 2016年1月. 東京都.

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎  
智義、赤痢アメーバ原虫におけるAtg5-Atg12遺伝子  
の同定 第39回日本分子生物学会年会・第89回日本  
生化学会大会合同大会 2015年12月兵庫県

渡辺菜月 腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* に  
おけるAtg5-12 複合体の解析とAtg8 により制御され  
る貪食胞成熟化に関わる分子機構の探索 第9回オ  
ートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートフ  
ァジーの集学的研究班会議 2015年11月1兵庫県

宮本絵梨 腸管寄生性原虫赤痢アメーバAtg8結合タン  
パク質の解析 オートファジー班会議 絵梨第9回オ  
ートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートフ  
ァジーの集学的研究班会議 2015年11月兵庫県

津久井久美子 赤痢アメーバ原虫における独特なAtg8機  
能と制御 第9回オートファジー研究会・第3回新学  
術領域研究オートファジーの集学的研究班会議  
2015年11月兵庫県