

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、再任用職員として八木田健司、杉山広、客員研究員として野崎智義、山崎浩、山本徳栄、大前比呂志、荒井俊夫、川中正憲、荒木潤、小川和夫、加瀬哲男、野地元子、高宮信三郎、熊澤秀雄、記野秀人、川中正憲、協力研究員として川合覚、朝妻貴博、岡本宗裕、吉富徹、林恭子、黒滝大翼、小林正規、中西裕美子、竹内直志、渡辺恒二、柳川泰昭、Ghulam Jeelani、Herbert Santos、渡辺菜月、川原史也、松崎素道、別所知明、二瓶浩一、吉田奈穂子、長谷川光子、坂西梓里、石川敬、岡本憲明、荒川京子、流動研究員として花館有希、研究生・実習生として、川本亮、村上正樹、窪田理恵、Nguyen Thi Nga、高木綾湖、多久和泉、川瀬航が在籍し、研究等に従事した。任期付き研究員として荒木球沙、Olia Alex、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下河原理江子、中曽根英子、賀川千里、山本郁代、荒井絢子、長谷川早悠里、原史絵、立石祐樹が在籍し、研究等に

業績

調査・研究

1. 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) 国内赤痢アメーバ症検査整備の取り組み

2017 年末以降、保険適用による赤痢アメーバ抗体検査中止により顕著に低下した赤痢アメーバ症届出数は、2021 年末現在回復の傾向がみられない。赤痢アメーバ症による死亡者数増加はないものの、医療上の問題は残る。問題の主因が検査法にあることから、新たに保険適用となった抗原検出キットに続き抗体検査の保険適用(再適用)を目指すべく、引き続き遺伝子検査データの収集と ELISA による抗体検査法の評価を進めている。また遺伝子検査では、感染症法上赤痢アメーバと区別されない *E. dispar* の感染が少なからず存在することから、両者の鑑別の重要性が示唆された。

[八木田健司、下河原理江子、柳川泰昭、渡辺恒二(国立国際医療研究センター)]

(2) バラムチア脳炎の診断法開発

致死的なアメーバ脳炎の原因となるバラムチア *Balamuthia* の検査法として、臨床的に利用可能な髄液を用いたバラムチア抗原検査法を考案した。Avidin-Biotin 反応を用いた高感度 ELISA では、PCR、免疫組織検査でバラムチア陽性を確認した患者髄液は 50% 希釈の条件で明確な陽性反応を示し、陰性髄液では同条件で陰性であった。昨年度試作した抗原検査用イムノクロマト法でも、前述の ELISA 法と同様の結果を得た。感染性の脳炎が疑われる症例では一般的に行われる髄液検査で、バラムチア抗原検査がアメーバ性脳炎の迅速診断の一助となる可能性が示された。

[八木田健司、花館有希]

(3) 耐塩素性病原微生物の顕微鏡検査における精度管理の例

水道におけるクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の検査は、水道原水 10L 中のわずか 1 つを顕微鏡で検出する容易ではない検査が行われている。手順が複雑かつ熟練を要する試験操作を伴い、検査結果は原水水質、検査手法、検査者の技量等により変動する懸念がある。しかし、他の試験検査と異なり、外部精度管理が導入されておらず、日頃から試験精度を把握している検査機関は少ないと推察される。

本研究は、耐塩素性病原微生物の検査における精度管理を例示し、精度管理の環境が向上することを目的とした。河川表流水を水源とする某水道事業体では、検査技能の維持や精度の把握を目的とした訓練が年 1 回実施されており、その内容は参考になると言えた。陽性コントロールは、安価に頻回に使えるよう、Alexa594 標識した固定試料を用意した。試験精度を高めるため、陽性コントロールの取り扱い方法を統一した。施設間の比較には、同じ河川水試料を試験試料として統一して使用した。陽性コントロールを計数した結果、変動係数は概ね 20% 以内であった。5 水道事業体の間で添加回収試験を行い、いずれも回収率は 50% 以上、変動係数も 20% 以内と良好であった。5 事業体は同一水系で取水しており、信頼性良く原水水質を共同監視できる体制が整っているとされた。

[鎌田智子(神奈川県内広域水道企業団浄水部)、大杉由利子(神奈川県企業庁企業局)、宮本雅史(横浜市水道局)、藤瀬大輝、古口健太郎(川崎市上下水道局)、森山富美(横須賀市上下水道局)、古川紗耶香(青森市企業局水道部)、安原雄作(九十九里地域水道企業団浄水課)、橋本温(県立広島大学生命環境学部)、黒木俊郎(岡山理科大学獣医学科)、井上亘(神戸大学大学院農学研究科)、中嶋直樹(神奈川県衛生研究所)、泉山信司]

(4) 水道原水におけるクリプトスポリジウム等検査法の向上に係る研究

クリプトスポリジウムやジアルジア等の耐塩素性病原微生物は、塩素消毒に抵抗性があり、ろ過除去等の対策が不十分であれば、水道水を介した感染事故が心配になる。クリプトスポリジウム等は様々な動物に感染し地域に関わらず流行するので、実際に影響を受けたと思われる水道原水からの検出報告が日本全国に分布することを確認した。以前は汚染がないと考えられてきた山間部に由来する河川水であっても、ジアルジアの遺伝子が検出され、上流の野生動物が由来と考えられた。この検出は顕微鏡検査の形態観察が容易ではなく、遺伝子検査によって補われた例であった。顕微鏡検査の安定性に向け、訓練と施設間の精度管理を例示した。10L にわずか 1 個を検出しなければならない困難さについては、より濃度が高い下水放流水を検査することが有用と考えられた。

[井上亘(神戸大学大学院農学研究科)、古川紗耶香(青森市企業局水道部)、鎌田智子(神奈川県内広域水道企業団浄水部)、大杉由利子(神奈川県企業庁企業局)、宮本雅史]

(横浜市水道局)、藤瀬大輝、古口健太郎(川崎市上下水道局)、森山富美(横須賀市上下水道局)、安原雄作(九十九里地域水道企業団浄水課)、橋本温(県立広島大学生命環境学部)、黒木俊郎(岡山理科大学獣医学科)、中嶋直樹(神奈川県衛生研究所)、泉山信司]

(5) モノクロロミン消毒下のバイオフィルムを対策する省力化洗浄方法の開発

アルカリ性の温泉では遊離塩素消毒の効果が低下し、レジオネラ属菌や自由生活性アメーバ等の増殖が抑えきれずバイオフィルムが問題となることから、代替の方法としてモノクロロミン消毒が提案され、レジオネラをよく抑えられることが実地試験で確認されている。ところがモノクロロミンを連続的に使用していると、*Mycobacterium phlei* が検出されるようになり、バイオフィルムの生成が懸念される場面があった。そこで本研究では、*M. phlei* のモノクロロミン消毒に必要な Ct 値(濃度×時間、すなわち消毒の程度)を確認するとともに、対策のひとつとして新たな洗浄方法を検討した。*M. phlei* に対する消毒効果は、得られた不活化曲線から同じ CT 値と比較した場合、遊離塩素よりモノクロロミンの方が高く、改めてアルカリ泉におけるモノクロロミン消毒の優位性が支持された。試験管内試験ではモノクロロミン消毒の方が消毒効果が高いにも関わらず、実地においてはモノクロロミンを連続使用している浴槽で *M. phlei* の増殖が観察されてきた。その理由として、浴槽水の連続使用にはやはり問題が有り、汚染の蓄積、例えば *M. phlei* がバイオフィルム中にあるといったことで、モノクロロミン消毒に対する抵抗性が生じるものと考えられた。消毒だけに依存せず、バイオフィルム除去を目的とした定期的な洗浄の必要性が改めて指摘された。現状において、ろ過器や配管は、ブラシを使った物理的な洗浄ができず、過酸化水素や過炭酸ナトリウムを使用した化学的な洗浄が行われている。しかし、これらの物質は劇物や危険物としての管理を要し、多量の薬剤を使った定期的かつ頻回の洗浄は容易ではない。そこで、使用する薬剤量の低減を目的として、過炭酸ナトリウムに助剤を併用する新規の洗浄方法に着目した。まず、ステンレス製試験片上に生成したバイオフィルムを効率よく除去できる洗浄条件を検討し、次に最適条件による実地試験を行った。その結果、薬剤の使用量が重量にして従来の 3 割と低減したにも関わらず、9 割以上の微生物が除去される洗浄効果が確認された。洗浄後のすすぎの回数も多くなく、これまでより少ない労力で

洗浄することが可能となった。この方法により、洗浄頻度と衛生の向上が期待される。

[森康則、永井佑樹、大市真梨乃、佐藤大輝、小林章人(三重県保健環境研究所)、柳本恵太(山梨県衛生環境研究所)、長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、枝川亜希子(地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)、山本哲司、細川賢人、田中孝典(花王株式会社)、杉山寛治、田中慶郎(株式会社マルマ)、市村祐二、茶山忠久(ケイ・アイ化成株式会社)、藤井明(株式会社ヘルスビューティー)、斎藤利明(株式会社ヤマト)、小坂浩司(国立保健医療科学院)、前川純子(細菌第一部)、泉山信司]

(6) 雑菌や自由生活性アメーバ等のバイオフィルムを抑える、オゾン消毒と酸性側モノクロロミン消毒の検討

公衆浴場等における循環式ろ過器はレジオネラ属菌の汚染源の 1 つであり、週 1 回以上の頻度で、高濃度塩素を用いた洗浄消毒が推奨されている。しかし、この方法は多量の薬液を必要とし、後処理も含め、多くの労力・コスト負担が避けられない。アルカリ泉におけるモノクロロミン消毒は、レジオネラに効果的でも、従属栄養細菌数が高くなることもあり、ろ過器を高濃度モノクロロミンで消毒してもこれを抑えきれず、バイオフィルムの蓄積が疑われる。浴槽水でレジオネラ属菌が検出されなければよいということではなく、そもそもレジオネラの増殖を避けるよう、バイオフィルムの蓄積や雑菌の増殖を抑えたい。本研究では、ろ過器をオゾンで強く消毒する方法、消毒効果が高まると期待される酸性側 pH の浴槽水をモノクロロミンで消毒する方法、の 2 つを検討した。毎日のろ過器逆洗に電解オゾン水を供給した結果、逆洗水に含まれていた雑菌は減少し、開始前に検出されていた逆洗水のレジオネラ属菌は、3 ヶ月以上継続して不検出となった。弱酸性の人工炭酸泉をモノクロロミンで消毒した結果、数ヶ月以上継続して浴槽水中の雑菌の濃度は低く抑えられ、レジオネラも不検出だった。いずれの方法を用いても、雑菌とレジオネラを抑えることが可能であった。

[泉山信司、田栗利紹(長崎県環境保健研究センター)、柳本恵太(山梨県衛生環境研究所)、森康則(三重県保健環境研究所)、長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、枝川亜希子(地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)、陳内理生(神奈川県衛生研究所)、斎藤利明、木村哲也、小森正人(株式会社ヤマト)、杉山寛治、田中慶郎(株式会社マルマ)、

市村祐二、茶山忠久、青木信和(ケイ・アイ化成株式会社)、山本哲司、細川賢人、田中孝典(花王株式会社)、藤井明(株式会社ヘルスビューティー)、小坂浩司(国立保健医療科学院)、前川純子(細菌第一部)

(7) 高 pH 温泉、有機物を含む温泉におけるモノクロロミン消毒

高 pH の温泉や有機物を多く含む温泉では、遊離塩素消毒の効果の減弱や、濃度の低下が知られている。そのような泉質でも、モノクロロミンは安定的にレジオネラを抑制できると期待されている。ただし、モノクロロミン消毒は浴用水中の従属栄養細菌数を増加させることがあり、また有機物を多く含む温泉水を利用した公衆浴場での実績に乏しい。そこで本研究では、そのような泉質の3営業施設の協力を得て、モノクロロミン消毒の実証試験を行った。高 pH の温泉施設では、全ての浴用水でレジオネラ、アメーバ、大腸菌群は陰性であったが、従属栄養細菌数は増加し、週1回、1時間の高濃度モノクロロミンを用いた配管の消毒では抑制しきれなかった。高 pH の温泉であっても、モノクロロミン消毒はレジオネラの制御に有用だが、従属栄養細菌数が増加する問題が再現され、より強力な洗浄や対策が必要と考えられた。有機物を含む温泉施設でも、レジオネラは陰性と、モノクロロミンの消毒効果が得られたが、従属栄養細菌数が高かった。菌叢解析の結果、*Methylomonas* 属菌、*Cloacibacterium* 属菌が優占菌種で、一見 *Mycobacterium phlei* はモノクロロミン消毒時に減少傾向にあったが、消えることはなかった。有機物が含まれている温泉においてもモノクロロミン消毒は有効であったが、繰り返し従属栄養細菌数増加への対策が必要と考えられた。

[柳本恵太、山上隆也、植松香星、久田美子、望月映希、大森雄貴(山梨県衛生環境研究所)、森康則、赤地重宏、永井佑樹(三重県保健環境研究所)、長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、田中慶郎、杉山寛治(株式会社マルマ)、茶山忠久、市村祐二(ケイ・アイ化成株式会社)、枝川亜希子(地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)、山本哲司(花王株式会社)、藤井明(株式会社ヘルスビューティー)、斎藤利明(株式会社ヤマト)、小坂浩司(国立保健医療科学院)、前川純子(細菌第一部)、泉山信司]

2. 蠕虫症診断法・検出法の開発

(1) 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(続報)

わが国で最近発生した旋毛虫食中毒の原因物質である *Trichinella T9* の幼虫に対して、75°Cで1分間の加熱(厚生労働省が野生鳥獣の安全な喫食に求める条件)を直接的に加えた上で、好適終宿主のマウスに経口投与したところ、一部の幼虫はマウスに感染するとの結果が得られたことから、調理の現場を想定した実験系を設定して、この加熱条件での虫体殺滅効果を調べた。その結果、感染マウスの筋肉を豚肉のブロックに埋め込み、中心温度を75°Cにして1分間の加熱したところ(ローストビーフの調理の要領)、処理筋肉を経口摂食させたマウスは、全く感染しなかった。75°Cで1分間の加熱は、調理の現場で適用されると、旋毛虫 T9 の感染性消失に有効であることが検証された。

[杉山広、森嶋康之、村上正樹、常盤俊大(日獣大)]

(2) 有鉤囊虫症イムノクロマトキットの開発

検出感度の向上を目指し、カイコ・バキュロウイルス発現系にて作製した地理的由来の異なる2種の遺伝子組換え抗原を用いて、イムノクロマトキットのプロトタイプを試作、血清パネルを用いて両キットの評価試験を行った。その結果、キットは囊虫症患者血清に対してはすべて陽性反応を示したが、健康人血清や有鉤囊虫症以外に対しても偽陽性反応が認められた。これら非特異的な反応の原因として、抗体検出系に用いた金コロイド標識抗体の種類や濃度、あるいは非特異反応を抑えるブロッキング剤に問題があると考えられた。現在、非特異的反応を軽減させるための改善を検討中である。

[山崎浩、森嶋康之、杉山広]

(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。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。材料は国内外から検査依頼目的で送付された臨床検体とし、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]

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) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 日本の先天性トキソプラズマ症患者由来原虫の性状解析

日本の先天性トキソプラズマ症由来の原虫株の分離に成功した。これは日本での由来の明らかな初の分離報告となる。母体の妊娠中に抗体陽転化が認められ、児は頭蓋内石灰化、脳室拡大、両網脈絡膜炎があり、トキソプラズマ IgM 陽性が確認されていた。なお、母親の妊娠1年前以降の海外渡航歴はなかった。確立できた分離株からゲノム DNA を精製し、Illumina HiSeq を用いて全ゲノム配列を決定した。得られた配列を、既知の全世界の分離株のゲノムと比較した結果、本分離株は日本で見出された特異な遺伝型ではなく、欧米で広く認められる Type II と同一のものであった。一方で、本分離株をマウス CD1 に接種し病原性を確認したところ、 10^5 虫体/マウスの大量投与条件においてもマウスに対する臨床的な症状をまったく示さず、また致死活性も確認できず、マウスに対する致死活性を弱いながらも有する欧米の Type II とは表現型が異なっていることが明らかとなった。また本分離株においてヒトに対する病原性とマウスの致死活性の間に相関関係が認められなかったことから、日本分離株の病原性を評価するための新たな実験系の確立が必要であると考えられた。

[川原史也、松崎素道、永宗喜三郎、山元佳(国立国際医療研究センター)、兼重昌夫(国立国際医療研究センター)、丸山治彦(宮崎大学)]

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。これまでにゲノム情報を得た日本分離株 12 株について全ゲノム解読を行ったところ、日本特有の 3 パターンの新奇な遺伝子型が存在していることが判明した。1 つは既知の HG2 とよく似ているが一部の染色体に北米大陸の HG12 との共通性があるもの(日本型)、1 つは一部の染色体の由来が既知 6 系統のいずれとも異なる独特のもの(新規 HG)、もう 1 つはこの両者が混血したようなものであった。特に沖縄県に見出される新規 HG や混血型は、マウスに対して比較的高い病原性を示した。これらのことは、日本におけるヒトおよび家畜のトキソプラズマ症の臨床像を議論する上で、これまで欧米で蓄積された遺伝子型や病原性についての知見だけでは不足することを意味する。今後はさらなるサンプリングを進めるとともに、日本分離株それぞれの特性を明らかにしていく必要があると考えられる。

[川原史也、松崎素道、永宗喜三郎]

(2) 日本におけるトリコモナスのメロニダゾール耐性の疫学調査

嫌気性の原虫トリコモナスによる性感染症は、WHO の推定では毎年 2 億人以上が世界で感染しており、海外ではメロニダゾール(MTZ)耐性原虫が問題となっている。わが国では感染症法に基づく届出基準に含まれていないため、国内の流行状況は不明であるが、今日でもトリコモナス膣炎は典型的な性感染症である。国内における MTZ 耐性原虫の流行を明らかにするために、産婦人科を受診する患者を対象に、トリコモナス感染の有無の調査を行った。まず、協力病院を受診し細胞診を受ける女性患者からインフォームドコンセントを得た後、子宮頸部の細胞検体を採取した。検体からのトリコモナス感染の有無は、トリコモナス培地での培養、ITS 領域を標的とする PCR と配列決定で確定診断を行った。昨年度 1 年間に 119 人の患者から検体を採取し、そのうち 5 検体がトリコモナス陽性であり、陽性率は 4.2%となった。3 人のトリコモナス患者はトリコモナス感染を疑う症状は示さず、無症候性であった。また全てのトリコモナス陽性患者はヒトパピローマウイルスにも重複感染していた。次に 5 株の純粋培養株を樹立し、MTZ 耐性試験を行った。これまで MTZ 耐性試験として、MTZ 存在下で細胞の運動性を鏡検で確認する手法が用いられているが、鏡検では生存の評価としては不十分と考え、生

細胞が産生する NADH を定量する手法を樹立した。その結果、全ての臨床単離株は MTZ 感受性であったが、IC₅₀ の測定により野生型よりも耐性度が高くなっている臨床単離株があることがわかった。現在のところ MTZ での薬剤治療には問題がないが、今後も MTZ 難治療性の株が出現しないかどうか注視する必要がある。

[中野由美子、梅木優子、下川周子、久枝一、小林浩一(東京山手メディカルセンター)、橋本耕一、高田恭臣、牧井千波、長谷部里衣、吉田友里、中島理子、小林正規(慶應大学)]

2. 蠕虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

(1)北東北 3 県のツキノワグマおよび北海道のヒグマにおける旋毛虫の寄生状況調査

舌を検査対象とする旋毛虫の検査を目的に、青森県で 15 頭および秋田県で 70 頭のツキノワグマの舌、また北海道で 206 頭(令和 2 年度捕獲分 95 頭、令和 3 年度捕獲分 111 頭)のヒグマの舌を確保した。現在消化法による検査を進めているが、陽性個体は決して多くないとの印象を得ている。

[杉山 広、森嶋康之、村上正樹、常盤俊大(日獣大)]

(2)富山県で発生したアニサキス食中毒事例に由来する虫体の分子同定(続報): 富山産マサバにおけるアニサキス寄生状況調査

富山県で 2018 年 1 月から 6 月の間に 29 例のアニサキス食中毒事例が発生したが、そのうちの 10 例は原因食品がサバ(だけ)であると、患者により記憶されていた。そこで富山湾の黒部地区において定置網で漁獲されたマサバを入手し、アニサキスの寄生状況を調べた。その結果、検査したマサバ 13 尾のうち、6 尾からアニサキス幼虫が検出された(検出率 46%)、そのうちの 2 尾では筋肉にも合計 30 隻の虫体が寄生していた(内臓も含めて 6 尾からの総検出虫体数は 63 隻)。合計 63 隻のアニサキス幼虫は、分子同定の結果、58 隻(92%)が *A. simplex sensu stricto* で、*A. pegreffii* は 5 隻(8%)のみであった。なお筋肉から検出された 30 隻(48%)はすべて *A. simplex sensu stricto* であった。日本海・東シナ海産のマサバには *A. pegreffii* の寄生が多いと報告されているが、今回の富山産マサバの調査では、全く異なる成績が得られ、喫食にあたってはアニサキス症中毒が発生せぬように十分な注意が必要であるとの結果が得られた。

[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(富山衛研)、東崎香奈(富山県厚生部) 関口健治、堀田和(富山県新川厚生センター)、森嶋康之、杉山広]

(3)愛知県におけるエキノコックス流行調査

2014 年 3 月、愛知県阿久比町において捕獲されたイヌ 1 頭からエキノコックス(多包条虫)虫卵が検出され、北海道以外の都府県からは第二例目となる「犬のエキノコックス症」として届出がなされた。当該犬は知多半島において野生化したイヌであり、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。2021 年度は 2 市町で陽性を検出し、同半島での監視開始以降、最も高い陽性率(4%)を認めた。

[森嶋康之、杉山広、八木欣平(北海道大学)、塚田英晴(麻布大学)]

III. 分類・同定・臨床

1. 国内の Microsporidia 感染症に関する研究

微孢子虫症 Microsporidiosis は細胞内寄生性真核生物である microsporidia による感染症で、近年新興感染症として認識されている。ヒトの場合は脳炎、消化器症状等を示し、臓器移植感染例も知られるが、国内ではその感染実態は明らかではない。これまで国内例として *Encephalitozoon* ならびに *Enterocytozoon* 感染例をみているが、今回世界的にも希少な *Pleistophora sp.* (下痢症検体) また *Brachiola algerae* (角膜炎検体) 感染例を得た。国内でも多様な Microsporidia の検出の可能性が想定され、その感染実態を明らかにする必要がある。

[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。臨床単離株は長期間 *in vitro* 培養を行っても病原性を維持していることを

動物実験によって確認した。また、*in vitro* 継代株と臨床単離株から回収した RNA を用い、RNAseq 解析を行った。肝膿瘍分離株は、他の無症候性・腸アメーバ症分離株と比較してストレス応答に関与する遺伝子発現が異なっていることがわかった。

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

IV. 生理・生化学・分子生物学

1. 原虫の病原機構・生物学にかかる研究

(1)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、我々は最近 MAF1 以外の別の誘導因子として ROP39 を同定した。本年度はリクルート因子の更なる探索を行った結果、既報の 2 つとは異なる新たに 2 種類のリクルート因子候補の同定に成功した。現在、これらの因子について逆遺伝学的手法を用いて、リクルート能の確認を行っている。

[福本隼平(長崎大学)、永宗喜三郎]

イ. 樹状細胞分化におけるトキソプラズマ感染防御関連遺伝子座を含むクロマチン高次構造の事前確立

古典的樹状細胞(cDC)は、免疫反応に不可欠な細胞であり、造血幹細胞から単球-DC 前駆細胞(MDP)などの中間前駆細胞を経て分化する。トキソプラズマ等の病原体感染時には、cDC は活性化され、サイトカインやケモカインなどの宿主防御関連遺伝子を速やかに発現する。近年、3 次元クロマチン構造が遺伝子制御に関与することが示唆されているが、cDC の分化・活性化過程において、防御関連遺伝子のクロマチン構造がどのように再編成されるかは不明であった。そこで、DC 前駆細胞および cDC を対象に Hi-C を行い、宿主防御関連遺伝子座におけるクロマチン構造の変化を明らかにした。今回得られた分解能において、核コンパートメントやトポロジカル・アソシエーティング・ドメイン(TAD)を観察することが可能であった。その結果、感染誘導性遺伝子座を含むゲノム領域

は、cDC 分化期を通じて活性型核コンパートメントに属していることがわかった。これらのゲノム領域は、MDP 期から H3K27ac レベルの上昇を示し始めた。興味深いことに、これらのゲノム領域における TAD 内相互作用と TAD ループ形成は、非感染 DC で既に確立されており、感染によって強化されることはなかった。これらの結果は、感染前の高次クロマチン構造の形成が、トキソプラズマ等の病原体に対する迅速な反応に寄与していることを示唆している。

[黒滝大翼(横浜市大)、永宗喜三郎]

(2)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解析

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)。さらに若い赤血球と古い赤血球が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で取り込まれることを見出した。この変化が赤血球表面の糖鎖に依存したことから、この糖鎖結合分子として、Gal/GalNac 特異的レクチン170kDa サブユニット(Hgl)に高い相同性を示す分子を見出した。これらの分子の性状解析を行うため、タグ融合タンパク質の高発現株の作出を試みた。シグナル配列と一つの膜貫通ドメインを持つため、C 末端、シグナル配列直下、膜貫通ドメイン直上に HA または myc タグを挿入した発現ベクターを都合 14 種類作成し、形質転換体の作成とタグ抗体を用いた局在解析を行った。しかしすべての融合タンパク質において Hgl と赤血球糖鎖結合タンパク質は細胞内のオルガネラに局在し、細胞膜表面への局在が認められなかった。ソニカマイシン処理により糖鎖修飾を阻害したところ、タグ融合タンパク質は野生型同様に糖鎖修飾を受けていた。よってゴルジ体以降で野生型と異なる輸送が起きていることが考えられた。細胞膜への輸送や局在効率は異なるが、モデルとして引き続き機能解析を行う。

[津久井久美子、柴田久美子、野崎智義(東京大学)]

イ. 赤痢アメーバにおける Rac 低分子量 GTPase の食食への関与

赤痢アメーバの多様な食食に関与する、アクチン細胞骨格制御分子である Rac 低分子量 GTPase のスクリーニングを行った。ゲノムに26存在する Rac のうち、栄養体で発現のある10種類について遺伝子発現抑制株を作成した。薬剤耐性となった赤痢アメーバ株における Rac 発現を reverse-transcriptase

PCR (RT-PCR)にて検討し、3種類の特異的遺伝子発現抑制株の樹立を確認した。これらについてファゴサイトーシス、トロゴサイトーシス効率を評価したところ、一つの遺伝子発現抑制株でファゴサイトーシス効率の低下が示唆された。よって、赤痢アメーバにおいても Rac 依存的アクチン骨格制御機構が存在する可能性が示唆された。

[山下美伶(東京大学)、野崎智義(東京大学)、津久井久美子]

ウ. 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。このマーカー分子である Atg8 は赤痢アメーバにも保存されているが、これまでの解析から貪食胞膜に動員され、貪食胞の成熟に関与することが示されている。Atg8 は可溶性タンパク質であり、膜への局在は一連のユビキチン様コンジュゲーション機構により膜脂質へコンジュゲートされることにより起こる。Atg8 の脂質修飾に必要な E3 酵素複合体である Atg5-12/16 複合体はモデル生物では3種類の分子から成るが、以前我々が赤痢アメーバにおける相同分子を同定したところ、これら3分子に加え *Entamoeba* 属にユニークな分子が同定された。しかしこの分子には保存されたドメインが存在せず、機能が不明であった。そこで HA タグ融合高発現株を作成し、抗 HA 抗体による免疫沈降と質量分析から結合タンパク質の同定を試みた。コントロールとしたベクター導入株と高発現株と比較し、Atg5-12/16 複合体の相同分子が同定され、E3 酵素複合体との結合が再確認された。さらに赤痢アメーバで転写因子として報告のあるカルシウム結合タンパク質である URE3BP との結合が示唆された。先行研究から URE3BP は核内から細胞膜まで多様な局在を示し、転写因子として機能する。そこでタグ融合 URE3BP 発現株を作成したが、細胞質でドット状の局在を示した。タグ融合タンパク質を用いた検討が困難と考え、先行研究を行ったグループから URE3BP 抗体の供与を受け、免疫沈降とウエスタンブロットにより特異的結合を検証した。しかし特異的結合を見出すことができなかった。URE3BP 以外の結合分子候補との結合を評価し、*Entamoeba* に特異的なオートファジー分子の機能を明らかにしていく。

[津久井久美子、柴田久美子]

エ. 薬剤耐性赤痢アメーバの迅速単離法の開発

これまで薬剤耐性研究のためのツールとして、DNA 複製酵素の校正機能 (error-prone) に変異を導入することにより、赤痢アメーバのミューテーター化に成功している。この赤痢アメーバのミューテーターの全ゲノム解析を行い置換の種類を計測したところ、プリン塩基・ピリミジン塩基間の置換である transition 変異は殆ど検出されず、プリン塩基→ピリミジン塩基あるいはピリミジン塩基→プリン塩基の変異である transversion 変異が検出され、変異の導入効率に隔たりが見られた。より効率的にミューテーターに変異を蓄積させるために、DNA 複製酵素の正確性 (fidelity) を担うアミノ酸にも変異を導入した三重変異 DNA 複製酵素を赤痢アメーバ内で発現させた。三重変異株に変異が効率よく蓄積していることを全ゲノム解析によって確認した。また、ウルソール酸やパロモイシンに対する薬剤選択も二重変異株よりも短期間で達成可能であったことから、三重変異 DNA 複製酵素を発現させた新たなミューテーター株も薬剤選択に利用できることを示した。

[中野由美子、平井誠(順天堂大)、泉山信司、中曽根英子、Sandipan Ganguly (インド NICED)、野崎智義(東京大学)]

オ. 新規糸状菌代謝産物 ovalicin の赤痢アメーバにおける標的探索

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 はメロニダゾールよりも20倍選択性に優れていた。ハムスターの肝膿瘍モデルによって、ovalicinは皮下投与ではメロニダゾールよりも高い治療効果を示した。しかし、経口投与では治療効果が得られなかったため、ovalicinの誘導体の合成とスクリーニングを行なった。約100化合物の誘導体について、ヒト培養細胞における毒性評価と赤痢アメーバに対するIC₅₀と照らし合わせ、赤痢アメーバ特異的に活性を示す誘導体の構造を評価した。

[中野由美子、柴田哲男(名古屋工業大)、森美穂子(北里大)、梅木優子、中曽根英子、柘植聡志、大村智、塩見和朗(北里大)、中野賢太郎(筑波大)、野崎智義(東京大学)]

カ. 金属キレーターを利用した抗原虫薬の開発

微量な金属元素は生物の生命維持に必須である。赤痢アメーバは宿主内で細菌や赤血球を捕食し、鉄源の添加は *in vitro* 培養条件に必須とされている。殺赤痢アメーバ活性を示

し、かつヒト培養細胞に毒性を示さない金属キレーターライブラリーを約 60 種スクリーニングした。その結果、二価鉄を標的とするキレーター化合物を得た。標的は銅や亜鉛ではないことを確認した。熱帯熱マラリア原虫には毒性を示さず、赤痢アメーバ特異的であった。ハムスターの肝膿瘍モデルで治療効果があることを証明した。よって、金属を標的とする化合物が、将来の殺アメーバ薬として有望であることを示した。

[中野由美子、梅木優子、中曾根英子、案浦健、和田章(理化学研究所)]

(3)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. マラリア原虫の核・オルガネラなどの増殖分子基盤の解明

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し、一方で、休眠期では単核のまま長期間宿主内に留まることが知られているが、そのオルガネラ制御・分子基盤に関する情報は全く明らかとなっていない。これまでに我々は、これらの分子基盤・制御機構を明らかにするため、様々な変異株の作製とその表現型解析を実施してきた。その結果、特定の遺伝子欠損は肝内型原虫に移行した後に増殖を停止することが明らかとなり、また休眠期を有するマラリア原虫種の特定遺伝子を用いて、休眠期を有しない原虫種で過剰発現させる事で肝内型原虫特異的に増殖を停止・休止させる可能性を見出した。現在、これらの特異的な分子の詳細な機能解析を行うと共に、肝内型原虫の *in vitro* 感染細胞を用いて、各種の電子顕微鏡を用いた2D あるいは3Dでの解析を展開している。これまでの様々な条件検討から、感染肝細胞を用いてマラリア原虫の核、ミトコンドリア、アピコプラストなど原虫の増殖に重要な役割を担うことが考えられる各種オルガネラの三次元構造解析にも成功し良好な結果が得られている。

[案浦健、荒木球沙、梅木優子、荒井絢子、原史絵、角田宗一郎(順天堂大)、立石祐樹、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

肝内型マラリア原虫が寄生する肝細胞は、核を持たない赤血球よりも様々な原虫排除応答が可能となるため、より特異

的な宿主への分子応答・宿主内生存戦略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。この NG2 に特異的な基質や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試みた。複数の培養細胞を用いて、NG2 の遺伝子導入ならびに、一過性に NG2 の高発現の誘導に成功した。この一過性に NG2 を発現する細胞株を用いて、条件検討を行ったが、NG2 を過剰発現させると短時間で大幅に細胞がダメージを受け細胞が委縮変性してしまうことが明らかとなり、NG2 の輸送基質の同定などが困難であることが明らかとなった。今後、さらなる条件検討、異なる発現系の確立などを検討することで、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. 休眠期マラリア原虫の解析にむけた分子基盤の解明と新たな感染実験系の作出

マラリアは、原虫種に応じて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に限られており、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モデル作出を試みた。これまでに、*P. cynomolgi* を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、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。またこれらの実験系を用いて、肝内型休眠期に関する *in vivo* 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。また本研究をさらに発展させるため、*P. cynomolgi* を用いて遺伝子導入を行うことで、恒常的に蛍光タンパク質と発光タンパク質を同時に発現する原虫の作製を

試みた。その結果、蛍光タンパク質と発光タンパク質を恒常的に発現するリポーター原虫の作出に成功した。今後、本原虫の詳細な表現型解析などを実施し、*in vitro* あるいは *in vivo* における定量化解析を実施する。これらの定量解析を明確にすることで、本原虫を用いた革新的な新薬開発や新たなワクチン開発が可能となる事が示唆され、休眠期における分子基盤の解明に大きく貢献することが期待される。

[案浦健、荒木球沙、荒井絢子、原史絵、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]

エ. マラリア原虫のヒストン制御機構と分子基盤の解明

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。一方で、マラリア原虫においては、ヒストン修飾酵素の阻害剤を用いた複数の研究から、発育ステージ間に応じて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。これまでに我々は、特にマラリア原虫の肝内型に特化した制御機構を、ヒストン修飾酵素の側から主に解析を実施してきた。その結果、原虫の発育期の違いにより、ヒストン制御機構の重要性などが大きく異なることが示唆された。そこで、本研究ではマラリア原虫の全発育期での解析が比較的容易に行うことができ、また遺伝子導入に関しても様々な手法を用いることができるネズミマラリア原虫を用いて、各種解析を展開した。これまでの解析から、マラリア原虫のヒストンは、一般的な真核生物のヒストンとはアミノ酸の保存性や2次構造において異なる箇所が複数存在することが明らかとなった。また、代表的なヒストン分子であるH3に着目し、遺伝子導入によるタグ付加分子として発現させることを検討しており、良好な結果が得られている。今後、これらのタグ付加原虫の作製と、エピジェネティックな制御に重要とされるアミノ酸残基に変異を加えることを検討し、その制御機構の重要性と各発育期における違いなどを明確にすることを試みる。

[案浦健、立石祐樹、荒木球沙、荒井絢子、川合覚(独協医大)、久枝一]

オ. 非ヒト霊長類を用いたマラリア病態機構の解明

マラリア原虫の感染に起因する重症マラリアの病態は、増悪化へのプロセスには様々な要因が複雑に関連することが示唆

されているが、その詳細は未だ不明な点が多い。特に感染赤血球の接着分子などの原虫側の要因のみならず、サイトカインストームなどに代表される宿主側応答と複雑に関連することから、各種の実験動物を用いた感染 *in vivo* モデルの作製や解析が必要となる。そこで本研究では、ニホンザルやアカゲザルなどのマカク類のみならず、リスザル・ヨザル・マーモセットなどの新世界ザルを用いたマラリア感染実験、その病態機構の解明を試みた。人獣共通感染症として重要な *P. knowlesi* を用いて、コモンマーモセットを用いた感染実験を実施した。その結果、*P. knowlesi* 原虫の感染と増殖が観察され、テレメリーシステムを用いた体温の変動と活動性に与える影響も観察することができた。今後、既存のマラリア治療薬などを用いて、治療モデルの条件検討を試みると共に、論文としての発表の準備を行う。また異なる新世界ザルであるリスザルを用いた感染実験も検討する。今後、これらの新規マラリア感染モデルを用いた病態機構の解明のみならず、*in vivo* における新規化合物の抗マラリア効果の判定や新規ワクチン候補分子の効果を判定することで、より有益な実験系としての発展を試みる。

[案浦健、荒木球沙、立石祐樹、梅木優子、荒井絢子、長谷川早悠里、原史絵、川合覚(独協医大)、岡本宗裕(京大霊長研)、横田伸一(東大医科研)、真下知士(東大医科研)、水上修作(長大熱研)、久枝一]

カ. 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のみならず、新規の重症化回避機構の探索など、マルチアングルなアプローチにより、新たな対策と候補化合物の検討を実施した。新規の抗原虫薬の開発を目指して理化学研究所と、宿主側の重症化機構の解明と候補化合物の検討を筑波大学とNIMS(国立研究開発法人 物質・材料研究機構)との共同研究として実施した。新規化合物のスクリーニングから、既存の抗マラリア薬よりも低濃度で殺原虫効果を示す化合物を複数得ることができた。また特定のユニークな機能を有する化合物を用いた実験から、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た。また興味深いことに、これらの化合物は *in vitro* において殺原虫効果は示さないことが示唆され、これらの化合物を基軸に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。現在、本化合物を用いたマラリア感染時の宿主応答に与える

変化など、詳細な解析を展開している。

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

キ、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。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 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 を得ており、すでに両者の GTPase が異なる積荷タンパク質の輸送に関与していることを報告した。共免疫沈降では、Arf GTPase の活性化因子である PfSec7 も得られている。また他種生物では Sec7 は複数個ゲノムに存在するのに対し、マラリア原虫には1つしか存在しない。マラリア原虫の Sec7 の機能を明らかにするために、ネズミマラリア原虫での局在を評価した。400 kDa の Sec7 のうち、C 末端領域を欠失させると致死となった。C 末端に GFP を融合させ、細胞内局在を観察すると、核に近傍の領域に局在しており、Rab5b と共局在していることが示唆された。マラリア原虫における小胞体—ゴルジ体間の輸送に、Sec7 も必要であると提示された。

[多久和泉、荒木球沙、梅木優子、案浦健、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力さが見て取れた。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。

(1) Myeloperoxidase (MPO) の脳マラリア病態形成への関与

脳マラリアの患者で増加が著しかった分子に Myeloperoxidase(MPO)が含まれる。この分子の脳マラリアの病態への関与を検討するために MPO 遺伝子欠損マウスに実験的脳マラリアを生じるネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA を感染させた。これまでにも同様のアプローチで検討を行なったが、その際には野生型マウスと同様に脳マラリアを発症することを認めた。すなわち、感染後6~8日後の原虫血症率モデルであるこれら分子に含まれるインターロイキン 28a (IL-28a)、Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)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、脳マラリアの病態形成に関わっているのか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 IL-28a、TSLP が検出されることはなかった。ついで、IL-28a 欠損マウスおよび TSLP 欠損マウスに PbA を感染させたところ、野生型マウスと同様に脳マラリアを起こし、速やかに致死性となることが明らかとなった。以上の結果から、IL-28a も TSLP も脳マラリアの発症にはほとんど関与しないことが明らかとなった。

[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) *Heligmosomoides polygyrus* の自己免疫性糖尿病の抑制効果

Heligmosomoides polygyrus (Hp) はネズミの小腸に寄生する線虫であるが、宿主免疫を抑制することが知られている。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。前年度までに ストレプトゾトシン投与による自己免疫性糖尿病モデルにおいて、Hp が高血糖、インスリン値低下、膵臓ベータ細胞の破壊を抑えることを見出した。さらに、その現象は Hp が出すトレハロースによって増加した *Ruminococcus gnavus* (Rg) という腸内細菌によって誘導された CD8Treg 依存的であることを明らかにした。今年度は、Hp → トレハロース → Rg → CD8Treg という一連の流れについて、より詳細に検討した。

まずは、トレハロース が直接 Rg を増加させるのかどうか、*in vitro* で Rg と、ネガティブコントロールとして Rg と共に Hp 感染マウスから単離した *Faecalibacterium prausnitzii* (Fp) にトレハロースを加えて培養した。すると Fp では増殖に変化が認められなかったが、Rg はトレハロースを加えると増殖した。このことから、トレハロース は Rg の増殖に直接関与していることが明らかになった。さらにその時の細菌の代謝物を測定するために、培養上清を GC/MS を用いて、短鎖脂肪酸と水溶性代謝物を網羅的に測定した。すると、Rg にトレハロースを入れると、複数の代謝物が増加していた。そこで野生型マウスの CD8Treg を単離し、増加していた代謝物を1つずつ添加すると、酢酸を添加した場合でのみ、CD8Treg が増殖した。これらの結果から、CD8Treg の増殖には、トレハロースによって増加した Rg が代謝した際に分泌した酢酸が重要であることが示唆された。現在、CD8Treg に酢酸の受容体があるかどうかを解析中である。

[下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、久枝一]

(2) 腸管内寄生性条虫 *Hymenolepis microstoma* の自然発症 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、昨年度までに自然発症 SLE モデルである NZBWF1 マウスを用いて、Hm が自然発症 SLE を抑制することを見出した。NZBWF1 マウスは8ヶ月齢になると、自己抗体が出現し、タンパク尿などの腎症状を呈するようになり、10ヶ月齢程度になると死に至る。2ヶ月齢時に Hm を感染させるとほとんどの症状がみられず、80%近くのマウスが15ヶ月齢を超えても生存す

ようになる。そのメカニズムとしては B 細胞の活性化の抑制、CD4+Treg と CD8+Treg の増加が考えられた。今年度は Hm の SLE の抑制メカニズムをさらに検討した。まずは、腸内細菌の関与を検討するために、Hm を感染させたマウスに抗生物質を飲水にて投与し、腸内細菌を減少させた。Hm を感染をしていない NZBWF1 マウスでは抗生物質投与の有無に関わらず、SLE を発症した。Hm 感染マウスでは SLE の発症が抑えられることが繰り返し確認できた。抗生物質を投与した Hm 感染 NZBWF1 マウスでも抗生物質を投与していないマウスと同様の SLE 抑制効果が見られた。Hm 感染マウスでは CD4+Treg と CD8+Treg の増加を認めるが、抗生物質を投与すると、CD8+Treg の増加は見られなくなるが、CD4+Treg は依然として増加していることが明らかとなった。これらの結果は、Hm の SLE 抑制効果には腸内細菌の関与、および CD8+Treg の貢献は少ないことを示している。一方で、抗生物質投与でも残存している CD4+Treg の防御的役割を示唆するものである。

ついで、CD4+Treg と CD8+Treg の関与を詳細に検討するために、Hm を感染させたマウスから CD4+Treg と CD8+Treg を採取し、非感染マウスに移入する実験を行った。CD8+Treg を移入した群では、非移入群と同様に SLE を発症したのに対して、CD4+Treg を移入すると Hm 感染がなくても同等に SLE を抑制することが明らかとなった。以上のことから、Hm の SLE 抑制には腸内細菌非依存的に増加する CD4+Treg が重要な役割を果たすことが明らかとなった。今後は、Hm 感染マウスにおける腸管内の代謝産物を解析し、Hm による CD4+Treg の増加に関わるメカニズムを検討する。

[Olia Alex、下川周子、伊藤薫平、久枝一]

3. アレルギーとしての胃アニサキス症の免疫学的解析

アニサキス症はアニサキス亜科(Anisakidae)の線虫の幼虫による食品由来の寄生虫感染症である。アニサキス幼虫が感染しているアジやサバなどの生食により感染する。アニサキスを摂食後、数時間内に激しい心窩部痛、嘔吐、吐き気を呈する、胃アニサキス症が主な病態である。一方で、内視鏡による健診が一般的になったことで、無症候性のアニサキス感染も多く見られるようになった。アニサキス幼虫が胃壁に突き刺さっているにも関わらず、症状を出さないヒトがいるということである。また、胃アニサキス症を発症するヒトは繰り返し発症する。これらの事実は、胃アニサキス症がアレルギーである可能性を示唆するものである。

昨年度までに作成したアニサキスアレルギーのマウスモデルを使用し、アニサキス虫体の分泌抗原(ES)と粗抗原(CA)で免疫した時の血中におけるアニサキス特異的 IgE の濃度を測定した。すると、CA よりも ES で免疫したマウスで特異的 IgE が高く誘導された。IgE の産生に重要な形質細胞の数も ES で免疫したマウスで多く認められた。形質細胞は形質芽細胞から分化する細胞であり、その分化には形質細胞様樹状細胞(pDC)が必須である。また、pDC は腸内細菌によって活性化することがこれまでに知られていたことから我々はアニサキスアレルギーの IgE 産生増加には腸内細菌が関与している可能性を考え、ES と CA で免疫したマウスの胃内細菌叢を次世代シーケンサーで解析した。すると、ES で免疫したマウスでは95%以上が *Lactobacillus* に置き換わっていた。現在は、*Lactobacillus* とアニサキス特異的 IgE の産生の関連を解析中である。

[下川周子、杉山 広、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42回衛生微生物技術協議会研究会に関連して寄生虫に関するレファレンスセンター会議をメールベースで行った。

[永宗喜三郎、八木田健司、森嶋康之、杉山広]

II. 原虫類のリファレンス活動

感染研および医療機関、地方衛生研究所等外部研究機関からの検査依頼を通じて得られる各種原虫類の検体、即ち固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として、また診断用血清等の臨床検体の保存を行い、これらの遺伝子型、抗原性、抗体価等の情報を収集している。一方で、これらのリファレンス材料は、依頼に応じて外部研究機関への分与が行われている。令和3年度の依頼検査および相談対応に関しては、トキソプラズマ7例、アメーバ赤痢等消化管寄生原虫症7例、アメーバ性脳炎4例、その他2例(歯肉アメーバ症、ミクロスボリジア角膜炎)であった。また外部からの病原体分与依頼は2件(*Acanthamoeba* sp.)であった。

[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として、台湾でアメーバ性角膜炎および環境中から分離されたアカントアメーバ株の系統解析とその共生細菌について解析を進めた。細菌共生が

見いだされた2つのアカントアメーバ株より共生細菌のリボソーム DNA 配列を同定し系統解析を行った。この結果 *unclassified Holosporaceae* と *Candidatus Paracaedibacter* を同定した。しかし 16S rDNA の解析だけでは系統的な位置を示す十分な解像度が得られておらず、別の遺伝子を用いた解析も行う予定である。これらの系統の細菌は原生生物への共生細菌として知られているが、既知の菌種と同一であるか明らかにする必要がある。

[津久井久美子、Lau Jie Yu(陽明大学)、Dar-der Ji(陽明大学)]

III. 蠕虫類のレファレンス活動

令和3年度には計51件の寄生虫症依頼検査があり、うち32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(ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、日本住血吸虫、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、それぞれウエスタンプ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17件のうち、アニサキス症3件、単包性エキノコックス症・多包性エキノコックス症・顎口虫症各1件に特異抗体が検出され、陽性と判定された。

[森嶋康之、杉山広、山崎浩]

(2)遺伝子解析等による寄生虫症検査

各種臨床検体中に見出された虫体(様物)の同定依頼数は34件あり、遺伝子の塩基配列解析結果もしくは形態学的観察に基づいて種の同定を行った。その結果26件が寄生虫で、条虫:*Dibothriocephalus nihonkaiensis* (9)、*Taenia saginata* (3)、*Diphyllobothrium balaenopterae* (1)、*Echinococcus granulosus sensu stricto* (1)、線虫:*Anisakis simplex sensu stricto* (6)、*Anisakis pegreffii* (1)、*Pseudoterranova azarasi* (1)、*Pseudoterranova desipiens* (1)、*Necator americanus* (1)、*Gnathostoma spinigerum* (1) 吸虫:*Fasciola gigantica* (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 3 年度水道クリプトスポリジウム法に係る技術研修に関するオンライン講座」国立保健医療科学院 令和 3 年 5 月, オンライン開催, 7月, 集合実習.

[八木田健司、泉山信司]

「令和 3 年度短期研修 新興再興感染症技術研修—環境中のアメーバとレジオネラ感染症」 令和 3 年 10 月, オンライン開催.

[八木田健司]

「令和 3 年度食肉衛生検査研修」動物由来感染症講習会 令和 3 年 6 月, オンライン開催.

[杉山広]

「令和 3 年度食品衛生危機管理研修」国立保健医療科学院 令和 3 年 10 月

[杉山広]

「令和 3 年度シンガポール向け冷蔵豚肉の輸出に係る旋毛虫検査研修」国立感染症研究所戸山庁舎, 令和 4 年 2 月, ハイブリッド開催.

[森嶋康之、杉山広]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説(欧文)

- 1) Nagaraja S, Cai MW, Sun J, Varet H, Sarid L, Trebicz-Geffen M, Shaulov Y, Mazumdar M, Legendre R, Coppee JY, Beagley TJ, Dedon PC, Gourinath S, Guillen N, Saito-Nakano Y, Shimokawa C, Hisaeda H, Ancri S. Queuine is a nutritional regulator of *Entamoeba histolytica* response to oxidative stress and a virulence attenuator. mBio. 12: e03549-20; 2021.
- 2) Ngo-Thanh H, Thuy TD, Suzue K, Kamitani W, Yokoo H, Isoda K, Shimokawa C, Hisaeda H, Imai T.

Long-term acrylamide exposure exacerbates brain and lung pathology in a mouse malaria model. Food Chem Toxicol. 151:112132; 2021.

- 3) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saito M, Maeda K, Virus Diagnosis Group (NIID Toyama). Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. BMJ Open Respir Res. 151:112132; 2021.
- 4) Yanagawa Y, Nagata N, Yagita K, Watanabe K, Okubo H, Kikuchi Y, Gatanaga H, Oka S, Watanabe K. Clinical Features and Gut Microbiome of Asymptomatic *Entamoeba histolytica* Infection. Clin Infect Dis. 73(9):e3163-e3171; 2021.
- 5) Hirakata S, Sakiyama Y, Yoshimura A, Ikeda M, Takahata K, Tashiro Y, Yoshimura M, Arata H, Yonezawa H, Kirishima M, Higashi M, Hatanaka M, Kanekura T, Yagita K, Matsuura E, Takashima H. The application of shotgun metagenomics to the diagnosis of granulomatous amoebic encephalitis due to *Balamuthia mandrillaris*: a case report. BMC Neurol. 21(1):392; 2021.
- 6) Matsuo T, Saito A, Kawai F, Ishikawa K, Hasegawa R, Suzuki T, Fujino T, Kinoshita K, Asano T, Mizuno A, Yagita K, Komiyama N, Uehara Y, Mori N. Use of PCR in the diagnosis of pericardial amebiasis: a case report and systematic review of the literature. BMC Infect Dis. 21(1):960; 2021.
- 7) Edagawa A, Matsuda N, Ogura T, Uezono K, Izumiyama S, Fujii A. Microbial Contamination of Rubber Ducks Floating in Bathtubs of Bathing Facilities, and an Evaluation of Their Washing Methods. Biocontrol Sci. 26(4):187-192; 2021.

- 8) Nakada-Tsukui K#, and Nozaki T#. Trophocytosis in Unicellular Eukaryotes. *Cells*. 10:2975; 2021. (# correspondence)
- 9) Sakamoto H, Nakada-Tsukui K, and Besteiro S. The Autophagy Machinery in Human-Parasitic Protists; Diverse Functions for Universally Conserved Proteins. *Cells*.r 10:1258; 2021.
- 10) Watanabe N, Nakada-Tsukui K, and Nozaki T. Diversity of phosphoinositide binding proteins in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol Int.*, 83:102367; 2021.
- 11) Fukumoto J, Sakura T, Matsubara R, Tahara M, Matsuzaki M, Nagamune K. Rhoptry kinase protein 39 (ROP39) is a novel factor that recruits host mitochondria to the parasitophorous vacuole of *Toxoplasma gondii*. *Biol. Open*, 10(9) bio058988; 2021.
- 12) Kinouchi T, Morishima Y, Uyama S, Miyamoto T, Horiguchi H, Fujimoto N, Ueta H. Neurocysticercosis in a Japanese woman with lung cancer who repeatedly visited endemic countries. *BMC Infect Dis*. 21(1):1077; 2021.
- 13) Makino T, Sugiyama H, Oshima M, Mizawa M, Shimizu T, Cutaneous gnathostomiasis caused by *Gnathostoma spinigerum*. *Br J Dermatol*. 186(5) :e198-e199; 2022.
- 14) Morita S, Sato S, Maruyama S, Miyagawa A, Nakamura K, Nakamura M, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maeda K, Kabeya H. Prevalence and whole-genome sequence analysis of *Campylobacter* spp. strains isolated from wild deer and boar in Japan. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 82: 101766; 2022.
- 15) Fredes F, Mercado R, Salas IP, Sugiyama H, Kobayashi H, Yamasaki H. Morphological observation and molecular phylogeny of *Spirometra decipiens* complex 1 (Cestoda: Diphyllbothriidae) found in cat from Chile. *Parasitol Int*. 84: 102493; 2022.
- 16) Calvopiña M, Bastidas-Caldes C, Romero F, Villacrés-Granda I, Pointier JP, Takagi H, Sugiyama H. Molecular identification of the human pathogen *Amphimerus* sp. in the freshwater snail *Aroapyrgus* sp. in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg*. 106: 222-228; 2021.
- 17) Morita S, Sato S, Maruyama S, Nagasaka M, Murakami K, Inada K, Uchiumi M, Yokoyama E, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maeda K, Kabeya H. Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from wild deer and boar in Japan. *J Vet Med Sci*. 83: 1860-1868; 2021.
- 18) Das K, Sardar SK, Ghosal A, Saito-Nakano Y, Dutta S, Nozaki T, Ganguly S. Multilocus sequence typing (MLST) of *Entamoeba histolytica* identifies kerp2 as a genetic marker associated with disease outcomes. *Parasitology International*. 83:102370; 2021.
- 19) Sardar SK, Ghosal A, Saito-Nakano Y, Dutta S, Nozaki T, Ganguly S. Molecular identification of *Cryptosporidium vistorum* infection in a patient suffering from unusual Cryptosporidiosis in West Bengal, India. *Korean J Parasitol*. 59(4): 409-413; 2021.
- 20) Saito-Nakano Y, Makiuchi T, Tochikura M, Gilchrist CA, Petri WA, and Nozaki T. ArfX2 GTPase regulates trafficking from the trans-Golgi to lysosomes and is necessary for liver abscess formation in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Front Cell Infect*

Microbiol. 11:794152; 2021.

実験医学 39, 2233-2236; 2021.

21) Araki T, Lin JW, Prudêncio M, Cunningham D, Annoura T*. Editorial: Malaria Targeting Toolkit: Host-Parasite Interactions. Front Cell Infect Microbiol. 11:795494; 2021.

6) 永宗喜三郎. 「寄生性原生生物トリパノソーマおよびトキソプラズマの分子生物学的研究」原生生物 4: 14-22; 2022.

22) Nurkanto A, Jeelani G, Santos HJ, Rahmawati Y, Mori M, Nakamura Y, Goto K, Saikawa Y, Annoura T, Tozawa Y, Sakura T, Inaoka DK, Shiomi K, Nozaki T. Characterization of *Plasmodium falciparum* Pantothenate Kinase and Identification of Its Inhibitors from Natural Products. Front Cell Infect Microbiol. 11:639065; 2021.

7) 永宗喜三郎. 「トキソプラズマ症」 Infectious Agents Surveillance Report 43: 49-50; 2022.

8) 永宗喜三郎, 森嶋康之. 「レセプトデータを用いた日本国内におけるトキソプラズマ症発生动向の推定」 Infect Agents Surveill Rep. 43: 51-52; 2022.

2. 原著論文、総説(和文)

1) 井上亘, 萩田堅一, 藤瀬大輝, 橋本温, 泉山信司. 小規模下水処理場放流水の塩素抵抗性原虫調査. 水道協会雑誌. 90(11), 23-27; 2021.

9) 村田理恵, 神門幸大, 前野愛, 鈴木淳, 横山敬子, 新開敬行, 貞升健志, 舘山優乃, 西野孝洋, 永宗喜三郎. 「トキソプラズマ等の寄生原虫が原因と推定されたクジラ肉の喫食による都内有症事例」 Infect Agents Surveill Rep. 43: 54-56; 2022.

2) 柳本恵太, 堀内雅人, 山上隆也, 植松香星, 久田美子, 杉山寛治, 田中慶郎, 茶山忠久, 市村祐二, 泉山信司. 山梨県のアルカリ性(pH10程度)温泉におけるモノクロロミン消毒の有効性の検討. 日本防菌防黴学会誌. 49(6), 261-267; 2021.

10) 森嶋康之, 杉山広, 山崎浩, 高崎元宏, 生野博, 石川敬. 食中毒としての日本海裂頭条虫症. Clin Parasitol. 32, 46-48, 2021.

3) 橋本温, 柳下真由子, 小林謙介, 泉山信司. 水道水質関連調査データを用いた水源のクリプトスポリジウム等検出状況とその定量的微生物リスク評価. 水道協会雑誌. 90(4), 1-9; 2021.

11) 森嶋康之. エキノコックス症: 国内の発生动向と対策. 獣医公衆衛生研究. 24, 13-17; 2022.

4) 津久井久美子, 野崎智義. 赤痢アメーバのトロゴサイトーシス分子機構 臨床免疫・アレルギー科特集 II ファゴサイトーシスとトロゴサイトーシス. 77(2), 160-167; 2022.

12) 綿引正則, 金谷潤一, 加藤智子, 木全恵子, 磯部順子, 大石和徳, 内田薫, 東崎香奈, 關口健治, 堀田和, 森嶋康之, 杉山広. 富山県で漁獲されたマサバにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査. Clin Parasitol. 32, 49-52, 2021.

5) 津久井久美子, 野崎智義. 寄生性原生生物から見えるトロゴサイトーシスの新しい分子機構 今知りたい!! 「かじる? 呑み込む? 食食の多様性トロゴサイトーシスとエフェロサイトーシス」企画 森岡翔

13) 巖城隆, 勝俣悦子, 依田貴之, 武津かほり, 森嶋康之, 杉山広. シロイルカ *Delphinapterus leucas* の腎臓への長期間の寄生が疑われた線虫 *Crassicauda giliakiana*. 日本野生動物医学学会誌. 26, 135-141; 2021.

14) 真屋由佳, 藤田靖幸, 宮本航大, 水上卓哉, 清水聡子, 児玉文宏, 森嶋康之, 杉山広, 長野功. 旋

毛虫の診断に至った中毒症の 1 例. 日本皮膚科学会雑誌. 131, 543; 2021.

- 15) 真屋由佳, 藤田靖幸, 宮本航大, 水上卓哉, 清水聡子, 児玉文宏, 森嶋康之, 杉山広, 長野功. クマ肉摂取後に皮疹を生じた旋毛虫症の 1 集団. 日本皮膚科学会雑誌. 131, 377; 2021.

3. 書籍 (和文)

- 1) 杉山広, 大前比呂思. 【呼吸器症候群(第 3 版)-その他の呼吸器疾患を含めて-[IV]】呼吸器感染症 寄生虫感染症(肺蠕虫症) 肺吸虫症. 日本臨床別冊呼吸器症候群 IV. 日本臨床社. 235-239, 2021.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Nagamune K. “Genetic diversity of Japanese Toxoplasma population based on genome-wide SNP analysis” Invited speaker, The 19th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Sep. 2021, online.
- 2) Watanabe N, Nakada-Tsukui K., Nozaki T. Diversification and Isotype-specific Functions of Vps26 and Vps35 of the Retromer Complex in the Parasitic Protozoan *Entamoeba histolytica* Cell Bio Virtual 2021 an online ASCB|EMBO Meeting. Dec. 2021, online.
- 3) Nakada-Tsukui K., Shibata K, Nozaki T. Atg8ylation of Atg5 and contribution in Atg8 recruitment to phagosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* Cell Bio Virtual 2021 an online ASCB|EMBO Meeting, Dec. 2021, online.
- 4) Taku I, Hirai T, Makiuchi T, Shinzawa N, Iwanaga S, Annoura T., Nagamune K., Nozaki T, Saito-Nakano Y. Rab5b associated proteins regulate the transport of N-myristoylated AK2 from the endoplasmic reticulum in *Plasmodium falciparum*. Woods Hole Molecular

Parasitology Meeting MPM XXXII. Oct. 2021, online.

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) 下川周子, 竹内直志, 加藤完, 金谷高史, 大野博司, 久枝一. Intestinal microbiota in mice infected with helminth suppress type I diabetes by inducing CD8+ Tregs via production of acetic acid. 第 90 回日本寄生虫学会学術集会. 2021 年 4 月, 奈良市.
- 2) Shimokawa C., Takeuchi T, Kato T, Kanaya T, Ohno H, Hisaeda H. Microbiota-derived acetic acid suppresses Type 1 diabetes via a G-protein-coupled receptor on CD8+ Tregs. 第 50 回日本免疫学会学術集会. 2021 年 12 月, 奈良市.
- 3) 松崎素道, 川原史也, 永宗喜三郎. “トキソプラズマ日本分離株の遺伝的多様性と分子疫学” 第 90 回日本寄生虫学会第 32 回日本臨床寄生虫学会合同大会. シンポジウム, 2021 年 4 月, 奈良市, ハイブリッド開催.
- 4) 村田理恵, 神門幸大, 前野愛, 鈴木淳, 横山敬子, 貞升健志, 永宗喜三郎. “クジラ肉の喫食による有症事例” 第 90 回日本寄生虫学会第 32 回日本臨床寄生虫学会合同大会. 2021 年 4 月, 奈良市, ハイブリッド開催.
- 5) 川原史也, 山元佳, 兼重昌夫, 松崎素道, 丸山治彦, 永宗喜三郎. “日本の先天性トキソプラズマ症患者由来原虫の分離と解析” 第 90 回日本寄生虫学会第 32 回日本臨床寄生虫学会合同大会 2021 年 4 月, 奈良市, ハイブリッド開催.
- 6) 泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 山本貢平, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子. 東北地方のある浄水場上流山間部における げっ歯類の *Giardia* 流行調査. 日本寄生虫学会東日本大会. 2021 年 10 月, 栃木県, オンライン開催.

- 7) 井上亘, 泉山信司. *Cryptosporidium* のオーシスト壁の透過性に関する研究 日本水処理生物学会 2021年10月, 神奈川県, オンライン開催.
- 8) 泉山信司. 消化管寄生性原虫のクリプトスポリジウム・ジアルジアへの対応 日本水処理生物学会 2021年10月, 神奈川県, オンライン開催.
- 9) 泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 山本貢平, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子. 山間部のげっ歯類が汚染源と推定される、腸管寄生性原虫による水道原水の汚染検出と対策の事例. 日本防菌防黴学会. 2021年9月, 大阪市, オンライン開催.
- 10) 泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子. 「耐塩素性病原微生物の顕微鏡検査を遺伝子検査で補い、浄水場の対策に反映された例」環境技術学会. 2021年6月, オンライン開催.
- 11) 泉山信司. 「環境水(河川、畜舎排水、下水放流水)中のクリプトスポリジウム、ジアルジア調査についての研究意義と将来展望より、国内の検出状況等について」水道微生物問題研究会 令和3年4月, 神奈川県, オンライン開催.
- 12) Nakada-Tsukui K, Shibata K, Watanabe N, Itsuji S, Uesugi Y, Shimoyama M, Nozaki T. Molecular mechanisms of trophocytosis in univellular eukaryotes. シンポジウム「食食によって築かれる細胞機能の多様性と進化—食食細胞転換」オーガナイザー・シンポジスト 第44回日本分子生物学会年会 2021年12月, 横浜市, ハイブリッド開催.
- 13) 津久井久美子, 柴田久美子, 渡辺菜月, 野崎智義. 赤痢アメーバにおける脂質化 Atg8 制御機構 文部科学省新学術領域「マルチモードオートファジー」第3回班会議 第14回オートファジー研究会. 2021年10月, 足柄下郡湯河原町, ハイブリッド開催.
- 14) Kadri S, Nakada-Tsukui K, Jeelani G, Nozaki T. PTEN plays an important role in the proliferation and phagocytosis of the human protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 第73回日本細胞生物学会大会. 2021年6月, オンライン開催.
- 15) 津久井久美子, 渡辺菜月, 柴田久美子, 野崎智義. 腸管寄生性原虫赤痢アメーバのファゴソーム・トロゴソームの食食胞初期成熟過程. 第73回日本細胞生物学会大会. 2021年6月, オンライン開催.
- 16) 津久井久美子, 渡辺菜月, 柴田久美子, 野崎智義. 腸管寄生性原虫赤痢アメーバの二種類の食食胞は異なる過程で成熟する. 第90回日本寄生虫学会・第32回日本臨床寄生虫学会 合同大会. 2021年4月, 京都市, ハイブリッド開催.
- 17) 多久和泉, 平井智浩, 牧内貴志, 新澤直明, 岩永史朗, 案浦健, 永宗喜三郎, 野崎智義, 中野由美子. 熱帯熱マラリア原虫 Rab5b の結合タンパク質は N-ミリスチル化 adenylylate kinase 2 を小胞体から選別輸送する. BPA セッション. 第90回日本寄生虫学会大会. 2021年4月, 奈良市.
- 18) 荒木球沙, 川合覚, 角田宗一郎, 小林宏尚, 中野由美子, 久枝一, 案浦健. 電子顕微鏡 3D 構造解析を用いたマラリア原虫のオーシスト期・核分裂様式の解明. 第90回日本寄生虫学会大会. 2021年4月, 奈良市.
- 19) 荒木球沙, 川合覚, 角田宗一郎, 小林宏尚, 中野由美子, 久枝一, 案浦健. 電子顕微鏡三次元構造解析を用いたマラリア原虫内部オルガネラ構造の解明. 第80回日本寄生虫学会東日本支部会. 2021年10月, オンライン開催.
- 20) 立石祐樹, 荒木球沙, 川合覚, 中野由美子, 久枝一, Coban Cevayir, 案浦健. マラリア原虫におけるヒストン H3 の制御機構の解明. 第80回日本寄生虫学会東日本支部会. 2021年10月, オンライン開催.
- 21) 荒木球沙, 川合覚, 角田宗一郎, 小林宏尚, 中野由美子, 久枝一, 案浦健. 電子顕微鏡 3D 構造

解析を用いたマラリア原虫のオルガネラ分配機構
の解明 第5回日本共生生物学会 2021年11月,
オンライン開催

- 22) 荒木球沙, 川合寛, 角田宗一郎, 小林宏尚, 中野由美子, 久枝一, 案浦健. FIB-SEM 解析を用いたマラリア原虫内部オルガネラ構造の解明. 第44回日本分子生物学会. 2021年12月, 横浜, ハイブリッド開催.