

# 第 77 回日本寄生虫学会 西日本支部大会

## プログラム・抄録集



会期:2022 年 9 月 22 日(金)

会場:Web 開催

大会長:岩永 史朗(大阪大学・微生物病研究所・分子原虫学分野)

大会事務局:大阪大学・微生物病研究所・分子原虫学分野

〒565-0871 吹田市山田丘 3-1

## ご挨拶

謹啓

皆様には益々ご健勝のこととお喜び申し上げます。

この度、第 77 回日本寄生虫学会西日本支部大会を大阪大学微生物病研究所分子原虫学分野の主催により Web 上で開催いたします。新型コロナウイルス感染症の流行が長引く中、このような形での開催となることをご理解いただければ幸いに存じます。一方で新しい Web ツールの発達と浸透により、従来よりも時間や手間をかけることなく、研究成果を発表・議論できるようになったことは歓迎すべき点です。本大会ではこれをフルに活用し、運営していきたいと考えています。

寄生虫による感染症はウイルス性・細菌性感染症と比較し、我が国をはじめとする先進国での流行は少なく、多くは途上国において問題となっています。先進国内での緊急度の低さから、研究のアクティビティはウイルス・細菌研究よりも低下する傾向にあるのが現状です。一方で、寄生虫疾患は有効なワクチンや治療薬の開発が遅れており、その推進は国際的な公衆衛生上、重要な課題となっています。我々、寄生虫学研究者がこの状況においてできることは自身の研究を止めることなく、着実に成果を積み上げていくことだと思います。また、その研究活動を通じ、少しでも多くの若い人たちに寄生虫研究に興味を持っていただき、その重要性・研究の醍醐味を伝えていくことだと思います。支部大会はこれら二つの点に応える格好の場だと考えます。すなわち、研究をより良いものとするための発表・議論の場、また学部生・大学院生の初めての成果発表の舞台となります。運営スタッフ一同、寄生虫学研究所の継続と発展に少しでも貢献できれば光栄に思います。

例年通り、若手研究者による優秀研究賞（BPA）対象の発表を募集いたします。Zoom の機能を使い、参加者全員で投票し受賞者を決定します。全ての BPA 対象演題をお聞きの上で活発にご討議いただき、投票いただければと思います。

大会会期は前回の米子大会を踏襲し、朝から夕方までの一日を予定しています。長い一日とはなりますが、お付き合いいただければ幸いです。

皆様の活発なご発表、ご討議を心よりお待ちしております。

謹白

第 77 回日本寄生虫学会西日本支部大会・大会長  
大阪大学・微生物病研究所・分子原虫学分野・教授  
岩永 史朗

## 大会概要

1. 会期：2021年9月22日（金）8:55 ～ 18:00

2. 会場：Web開催（Zoom）

Zoom URL

<https://zoom.us/j/96268184337?pwd=bEIEZTZYZUkzMmdMNGVpbXIGZGFEZz09>

ミーティングID: 962 6818 4337

パスコード: 518635

3. 大会ホームページ：

<https://sites.google.com/view/wjparasitemeeting/%E3%83%9B%E3%83%BC%E3%83%A0>

4. 参加費

会員区分	大会参加費
評議員・正会員(学生以外)	1,000 円
学生	無料

5. 大会事務局

第77回日本寄生虫学会西日本支部大会事務局

大阪大学微生物病研究所分子原虫学分野

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1

TEL: 06-6879-8364

E-mail: 77.west.parasitology.society@gmail.com

## 大会日程

8:30 - Zoom 入室開始

8:55 - 9:00 開会挨拶・学会進行説明

9:00 - 10:00 特別講演

座長：岩永史朗(大阪大・微研・分子原虫)

「島嶼におけるマラリア根絶」

金子 明 先生 (大阪公立大学・大学院医学系研究科・特任教授、カロリンスカ研究所・微生物学, 腫瘍及び細胞生物学部・教授)

10:00 - 10:10 休憩 10 分

10:10 - 10:52 セッション 1 (優秀研究対象演題①) 14 min×3

座長：加賀谷渉 (大阪公立大・医・寄生虫学)

1-1 熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期における PTEX 複合体の解析

岡田 小夏 (神戸大院・保健・国際感染症対策)

1-2 熱帯熱マラリア原虫生殖母体期の SBP1 と相互作用するタンパク質の検索

面田 彩馨 (神戸大院・保健・国際感染症対策)

1-3 ヒト由来ブラストシスチスの 9 種類のサブタイプを簡易同定するための

Multiplex-PCR の検討

俣野 彩楓 (奈良女子大学・理学部・生物)

10:52 - 11:00 休憩 8 分

11:00 - 11:56 セッション 2 (優秀研究対象演題②) 14min×4

座長：入子 英幸 (神戸大院・保健・国際感染症対策)

2-1 *Blastocystis* の異なるサブタイプが混在する場合における効率的なサブタイプ同定方法の検討

船木 江理花 (奈良女子大・理・生物)

- 2-2 Pathogenic features of *Blastocystis* -subtypes in human  
Roselydiah Nasipwondi Makunja (金沢大・医・国際感染症制御学)
- 2-3 Intra-species genetic taxonomy of *Enteromonas* spp.  
Siti Arifah Lacante (金沢大・医・国際感染症制御学)
- 2-4 Genetic taxonomy of genus *Chilomastix*  
Jiang Chuanhao (金沢大・医・国際感染症制御学)

11:56 - 13:00 昼食・休憩

13:00 - 13:56 セッション 3 (優秀研究対象演題③) 14min×4

座長：森田 将之 (愛媛大・PROS・マラリア研究)

- 3-1 転写因子IWS1によるトキソプラズマ病原性因子の遺伝子発現制御  
端崎 恵巳 (大阪大・微研・感染病態)
- 3-2 *Toxoplasma gondii* Immunity-Related GTPase b2 (IRGb2) among wild *Mus musculus* and IRGb2 ortholog among *Apodemus speciosus*  
Nikolai D. Shamaev (岐阜大院・共同獣医研究科)
- 3-3 Comprehensive analysis of biomolecules in the extracellular vesicles secreted from *Trichinella spiralis*  
Sukhonthip Khueangchiangkhwang (岐阜大・医・寄生虫)
- 3-4 1回だけで済ませたい！ヒトにもサルにも低負担な鞭虫駆虫法の検討  
徳重 江美 (京大院・理学研究科)

13:56 - 14:10 休憩 14分 優秀研究賞投票 (Zoom)

14:10 - 14:54 セッション 4 (一般演題①)11min×4

座長：高島 康弘 (岐阜大・獣医・寄生虫病学)

- 4-1 山口県のコウモリから検出された *Lecithodendriidae* 科吸虫の報告  
工藤 彩夏 (山口大・共獣・寄生虫)
- 4-2 山口県内のコウモリから見つかった *Plagiorchis* 属吸虫  
戸倉 愛美 (山口大・共獣・寄生虫)
- 4-3 Genetic diversity of bat haemosporidian parasite, *Polychromophilus* spp., in Japan  
Imron Rosyadi ( (山口大・共獣・寄生虫))

4-4 ヘビの胆管に寄生する吸虫 *Paradistomum megareceptaculum* の形態及び分子学的解析  
巢瀬 哲矢 (岡山理科大・獣医・医動物学)

14:55 - 15:39 セッション 5 (一般演題②) 11min×4

座長：林 慶 (岡山理科大・獣医・医動物学)

- 5-1 マンソン裂頭条虫プレロセルコイドにおける細胞外小胞のマクロファージに与える影響  
谷口 莉楓 (鳥取大・医・医動物学)
- 5-2 TSLPはCD4依存性、非依存性の両経路で *Strongyloides venezuelensis* 感染に対する抵抗性に貢献する  
安田 好文 (兵庫医科大・医・免疫学)
- 5-3 組織透明化技術を用いた *Taenia saginata* の解析  
王寺 幸輝 (奈良県立医科大学・病原体・感染防御医学)
- 5-4 条虫の1種である *Mesocestoides vogae* のテトラチリジウムの宿主血液成分による無性生殖の開始  
榊原 秀雄 (岐阜大・獣医・寄生虫病学)

15:39 - 15:50 休憩 11分

15:50 - 16:23 セッション 6 (一般演題③) 11min×3

座長：山本 雅裕 (大阪大・微研・感染病態)

- 6-1 南シナ海産アジ科市販魚からの *Unicapsula seriola* および新種 *Unicapsula aequilobata* の検出  
井上 健 (山口大院・共同獣医学研究科)
- 6-2 太平洋産アジ科市販魚からの *Kudoa trachuri* および新種 *Kudoa longichorda* の検出  
井上 智義 (山口大・共同獣医・寄生虫)
- 6-3 ウインドウレス鶏舎におけるワクモ数と絶対湿度の関係についての解析  
上羽 智恵美 (京都府農林水産技術センター畜産センター)

16:25 - 16:58 セッション 7 (一般演題④) 11min×3

座長：柳田 哲矢 (山口大・共同獣医・寄生虫)

- 7-1 *Giardia intestinalis* assemblage Bの遺伝子流動についての解析と考察  
水野 哲志 (金沢大・医・国際感染)
- 7-2 アフリカトリパノソーマ原虫でコピー数多型を示すSAHH遺伝子の配列解析  
中西 雅之 (松山大・薬・生化学)
- 7-3  $\beta$ -1,3-glucan はアカントアメーバの嚢子壁の構成成分として重要である。  
山田 稔 (京都府立医大・院・感染病態学)

16:58 - 17:05 休憩 7分

17:05 - 18:00 セッション 8 (一般演題⑤) 11min×4

座長：岩永 史朗 (大阪大・微研・分子原虫)

- 8-1 Olyset®Plusによる天井式蚊帳を用いたクラスターランダム化比較試験  
加賀谷 渉 (大阪公立大・医・寄生虫学)
- 8-2 熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期における寄生胞膜動態の解析  
伊坂 恵里奈 (神戸大院・保健・国際感染症対策)
- 8-3 マラリア原虫タンパク質の超微細局在解析のためのAGIAタグシステムの応用  
森田 将之 (愛媛大・PROS・マラリア研究)
- 8-4 2剤併用によるマラリア治療効果の検証  
松森 宏明 (岡山大院・医歯薬総合・国際感染制御)

17:38 - 18:00 閉会の挨拶

## 参加者へのご案内

### 視聴者の皆様へ

- 1) インターネットにつながる通信環境がよい場所でご参加ください。
- 2) 事前に Zoom アプリケーションが最新版かどうかご確認ください。
- 3) 受信映像や発表スライドの写真撮影（スクリーンショット、キャプチャーを含む）、ビデオ撮影、録画、録音、再配布は一切禁止します。
- 4) 事前にご案内するパスコードを用いて会場 URL よりご入室ください。
- 5) 入室時には以下の例に従い、名前（所属）を入力してください。入室後に名前の変更はできません。変更する場合は Zoom から一旦退室してください。

### 記入例

名前：寄生虫 太郎（宿主大学）

- 6) 開始時間は 8 時 30 分を予定しています。開始時間より前に入室すると「ホストがミーティングを開始するまでお待ちください。」と表示されますが、そのまま開始までお待ちください。
- 7) 開催期間中、途中入退室は可能です。
- 8) 質問は Zoom の「チャット機能」、もしくは「挙手」により受け付けます。チャットの質問は座長が代読します。挙手については座長が指名します。
- 9) 優秀研究賞の投票は Zoom の「投票」機能を用いて行います。投票は匿名です。セッション 3 終了後に投票を開始します。結果は 9 月 26 日（月）に大会ホームページにてお知らせします。

### 特別講演・研究優秀賞対象演題・一般演題 座長の皆様へ

- 1) ご担当のセッション開始 10 分前に必ず、入室してください。
- 2) 視聴者からの質問は「チャット」機能から受け付けます。演題発表がおわりましたら、ビデオとマイクをオンにして、質問を代読していただきます。
- 3) 時間管理は事務局が行いますが、進行は各自の裁量でお願いいたします。演者への説明の項目にあるように発表終了時 1 分前、発表終了時、質疑応答終了時に事務局からベルでお知らせします。



## 特別講演・研究優秀賞対象演題・一般演題 演者の皆様へ

- 1) 大会開催前日にリハーサルを行います。所定の時間に事前にメールにてご案内する URL よりご入室ください。
- 2) セッション開始 15 分前までに会場用 Zoom URL よりご入室ください。
- 3) 特別講演は、発表 50 分、質疑応答 10 分の計 60 分です。  
優秀研究対象演題は、発表 10 分、質疑応答 4 分の計 14 分です。  
一般演題は、発表 8 分、質疑応答 3 分の計 11 分です。
- 4) 口頭発表のみです。音声入力したプレゼンテーションは不可とします。
- 5) 発表終了 1 分前、発表終了時、質疑応答終了時にベルでお知らせします。
- 6) 発表ファイルの事前受付は行いません。ご自身の PC から画面共有にて発表していただきます。
- 7) 座長が代読した質問、視聴者からの口頭での質問に対してマイクをオンにして口頭でお答えください。
- 8) 利益相反（以下 COI）に関するスライドを発表スライドに入れてください。

## COI開示例

### 申告すべきCOI状態がある時 (タイトルスライドまたは2枚目にて開示)

演題名	□□□□□□□□□□についての解析
所属	<sup>1</sup> □□大・医・医動物学、 <sup>2</sup> □□大・技術部・医学系部門
氏名	発表太郎 <sup>1</sup> 、学会花子 <sup>1</sup> 、支部会二郎 <sup>1</sup> 、寄生虫 <sup>1,2</sup>
<b>↑発表者全員の氏名を記載する</b>	
<b>↓COI状態の開示（開示すべき項目のみ）</b>	
演題発表に関連し、発表者らの開示すべきCOI関係にある企業等として、	
講演料：	大山製薬、中海製薬
受託研究費・共同研究費：	大山製薬
奨学寄附金：	中海製薬

### 申告すべきCOI状態がない時 (タイトルスライドにて開示)

演題名	□□□□□□□□□□についての解析
所属	<sup>1</sup> □□大・医・医動物学、 <sup>2</sup> □□大・技術部・医学系部門
氏名	発表太郎 <sup>1</sup> 、学会花子 <sup>1</sup> 、支部会二郎 <sup>1</sup> 、寄生虫 <sup>1,2</sup>
<b>↑発表者全員の氏名を記載する</b>	
<b>↓COI状態の開示</b>	
演題発表に関連し、発表者らの開示すべきCOI関係にある企業等はありません。	

## 優秀研究賞について

### 目的:

若手研究者の研究テーマに対するより深い理解、洞察とプレゼンテーション能力の向上を奨励するため、優秀研究賞を設けます。

### 投票方法:

全候補演題の発表、質疑応答を聞いた視聴者による投票を Zoom の投票機能を用いて行います。セッション 3 終了後に画面下に出現する「投票ボタン」をクリックして投票してください。優秀研究賞候補者には投票権はありません。

### 選考基準:

以下の選考項目について評価を行い、該当する候補者を 1 名選んで投票してください。得票順に上位 2 名を優秀研究賞受賞者とします。

### 選考項目:

- ① 研究目的が明確にわかりやすく提示されたか。
- ② 目的を達成するための研究方法は適切か。
- ③ 導かれた結論は妥当か。
- ④ 研究成果に新規性、独創性はあるか。
- ⑤ 制限時間に合わせてわかりやすく説明できたか。

### 受賞者発表:

投票を集計後、2022 年 9 月 26 日 13 時に大会ホームページにて受賞者を発表します。受賞者には大会事務局より後日、賞状を郵送いたします。

# 特別講演

## 島嶼におけるマラリア根絶

大阪公立大学/カロリンスカ研究所 金子明

島嶼は干渉研究に対して自然の実験系を提供する。ヴァヌアツ・アネイチウム島は南西太平洋におけるハマダラカ属蚊分布の限界を規定するバクストン線南東端に位置する隔絶した小島嶼で、熱帯熱マラリアおよび三日熱マラリアが季節的な変動を伴い流行していた。1955年開始の世界マラリア根絶計画は、熱帯アフリカを含まず、「マラリアに魔法の弾丸はない」という教訓を残し1969年に終焉した。その後マラリア死者数が増え続けていた1991年に、アネイチウム島においてマラリア撲滅の可能性を検討する研究を開始した。週毎のクロロキン、SP合剤、プリマキンによる集団投薬(MDA: mass drug administration)をアネイチウム島全人口718名に1991年の雨季前9週間行った。同時に殺虫剤処理蚊帳を配布し、幼虫嗜好性魚も媒介蚊生息場所に導入した結果、薬剤服用率(88.3%)、蚊帳配布(0.94帳/人)で示される高い住民参加が達成され、その後8年間の定期的な原虫感染率調査はアネイチウムにおけるマラリア伝播が断たれ、維持されたことを示した。集団治療後2例の輸入感染例を別にすると熱帯熱マラリア陽性はなく、三日熱マラリアも1996年以降なくなった。本研究により高い住民参加があれば周到に計画された短期MDAと維持可能な媒介蚊対策により隔絶された島嶼からマラリアを撲滅させることが示された(Kaneko A, et al. Lancet 2000)。原点としてのアネイチウム島から最近のケニア・ビクトリア湖畔まで、本講演ではこれまでのマラリア撲滅に向けたフィールド研究をふりかえりたい。

### 略歴

1975年筑波大学附属駒場高等学校卒業。1982年弘前大学医学部卒業、臨床研修を経て1984-1987年弘前大学医学部寄生虫学教室助手。この間1984年にバンコク、マヒドール大学にて熱帯医学・衛生学 Diploma(DTM&H)取得、1985-1987年 JICA 専門家としてインドネシア・北スマトラにてマラリア対策に従事。1987-1994年 WHO マラリア専門医官として南西太平洋ヴァヌアツにてマラリア対策に従事。1995年弘前大学で医学博士取得、1995-2004年東京女子医科大国際環境・熱帯医学教室助教授。1995年よりストックホルム、カロリンスカ研究所との共同研究を開始し、1999年 PhD の学位、2004年 Docent (准教授) の職位を取得。2005年よりカロリンスカ研究所研究員として島嶼マラリア研究グループを主催、2006年より長崎大学熱帯医学研究所客員教授を兼任。この間マラウイ、ケニア、ザンジバル、カンボジア、パプアニューギニア、ヴァヌアツ等にて現地マラリア疫学・対策研究を展開。2010年より大阪市立大学大学院医学研究科教授(寄生虫学)、2011年よりカロリンスカ研究所微生物学・腫瘍および細胞生物学部教授(Global Health)。2010年開始のケニア・ビクトリア

湖畔における研究が「マラリアのない社会の持続を目指したコミュニティ主導型統合的戦略のための分野融合研究プロジェクト」として AMED/JICA 支援の SATREPS 感染症研究分野に採択(2020-2025)。現地にマラリア撲滅センターを設立し、熱帯アフリカのマラリア撲滅可能性実証を目指し、人材育成、研究交流を加速している。2022 年 3 月大阪市立大学名誉教授、4 月より大阪公立大学大学院医学研究科特任教授（寄生虫学）。

### 受賞歴

2001 年、東京都医師会医学研究賞「太平洋島嶼における抗マラリア剤の薬理遺伝学研究」。2006 年、弘前大学医学部鳳凰会賞「オセアニア島嶼におけるマラリア根絶の研究」。2016 年、日本熱帯医学会賞「島嶼におけるマラリア根絶」。2018 年、The TROPMED Outstanding Alumni Award, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand。2022 年、日本寄生虫学会桂田賞「地球規模マラリア根絶への住民主導型統合戦略の構築」、Malaria No More Japan 第 9 回ゼロマラリア賞、第 18 回ヘルシー・ソサエティ賞教育部門。

# 優秀研究賞対象演題

## 1-1

### 熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期における PTEX 複合体の解析

○岡田小夏<sup>1</sup>、伊坂恵里奈<sup>1</sup>、面田彩馨<sup>1</sup>、吉野健一<sup>2</sup>、橘真由美<sup>3</sup>、石野智子<sup>4</sup>、鳥居本美<sup>3</sup>、入子英幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸大院・保健・国際感染症対策、<sup>2</sup>神戸大・バイオシグナル総合研究センター、<sup>3</sup>愛媛大・PROS・寄生病原体学、<sup>4</sup>東京医科歯科大・寄生虫学熱帯・熱帯医学分野

熱帯熱マラリア原虫は、赤血球侵入時に「寄生胞膜」と呼ばれる脂質二重膜を形成する。この寄生胞膜には、原虫タンパク質を宿主細胞側に輸送するメカニズムがあることが知られている。本研究では、原虫タンパク質の寄生胞膜通過に関与する PTEX (Plasmodium translocon of exported proteins) 複合体に着目し、複合体構成タンパク質 3 種類 (EXP2, HSP101, PTEX150) の発現時期を解析し、無性生殖期と生殖母体期間で比較した。さらに、EXP2 抗体を用いた共免疫沈降実験により、生殖母体期における PTEX 複合体の形成について検証した。

生殖母体期における PTEX 複合体構成タンパク質の発現時期を明らかにするために、EXP2, HSP101, PTEX150 の特異抗体を用いた間接蛍光抗体法を行なった。EXP2 と HSP101 は未成熟生殖母体期 (ステージ 1,2) において原虫周囲に蛍光が観察された。PTEX150 は生殖母体の全ての発育ステージで蛍光が観察された。次に、未成熟生殖母体の感染赤血球から抽出した総タンパク質と EXP2 抗体を共有結合させた磁気ビーズを用いて共免疫沈降実験を行った。溶出画分の SDS-PAGE の銀染色像において複数のバンドが観察され、これらのゲル断片を用いて LC/MS/MS 分析を行なったところ、PTEX 複合体構成タンパク質 3 種類が検出された。以上の結果から、未成熟生殖母体の寄生胞膜における PTEX 複合体形成の可能性が示唆された。

## 1-2

### 熱帯熱マラリア原虫生殖母体期の SBP1 と相互作用するタンパク質の検索

○面田彩馨<sup>1</sup>、岡田小夏<sup>1</sup>、伊坂恵里奈<sup>1</sup>、吉野健一<sup>2</sup>、橘真由美<sup>3</sup>、石野智子<sup>4</sup>、鳥居本美<sup>3</sup>、入子英幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸大院・保健・国際感染症対策、<sup>2</sup>神戸大・バイオシグナル総合研究センター、<sup>3</sup>愛媛大・PROS・寄生病原体学、<sup>4</sup>東京医科歯科大・寄生虫学熱帯・熱帯医学分野

赤血球に寄生したマラリア原虫は、原虫自身が産生したタンパク質を宿主細胞側に輸送し、感染赤血球の細胞骨格を改変し、細胞接着、変形能、透過性などの特性を付与する。感染赤血球表面への原虫タンパク質の輸送には、感染赤血球膜近傍に形成される「Maurer's cleft」に局在する Skeleton binding protein 1 (SBP1) が関与する。我々は、生殖母体期における SBP1 の機能を明らかにすることを目的として研究を行っている。

本研究では、生殖母体期における SBP1 の発現時期を明らかにするために、SBP1 抗体を用いた間接蛍光抗体法を実施した。さらに、免疫電顕法による分子局在の解析を行なった。生殖母体期の SBP1 は、全ての発育ステージに発現し、ステージ 3 以降では Laveran's bib (赤血球の辺縁部) に集積した Maurer's cleft に局在することが明らかになった。次に、生殖母体期の SBP1 と相互作用するタンパク質を検索するために、生殖母体感染赤血球から抽出したタンパク質と SBP1 抗体を用いた共免疫沈降実験を行った。

回収されたタンパク質の SDS-PAGE の銀染色像には複数のバンドがみられ、SBP1 抗体を用いたウェスタンブロットでは推定サイズに単一のバンドが確認された。現在、共免疫沈降実験により得られた試料の LC-MS/MS 分析を行なっている。



## 1-3

### ヒト由来ブラストシスチスの9種類のサブタイプを簡易同定するためのMultiplex-PCRの検討

○俣野彩楓、吉川尚男

奈良女子大学・理学部・生物

ブラストシスチスは嫌気性の腸管に寄生する原生生物であり、ヒトを含む幅広い種類の動物から見つかっている。小サブユニットrRNA遺伝子 (SSU rDNA) の分子系統解析の結果から、ヒトを含む哺乳類と鳥類由来のブラストシスチスは遺伝的に異なるサブタイプ (ST) として17種類以上に分類されている。ブラストシスチスの感染個体の多くは、単一のSTの感染であるが、まれに複数のSTの感染も見られる。諸外国では、SSU rDNAの部分配列の塩基配列を解読し、アライメントによりST同定が行われている。一方、2016年に本研究室で開発されたST特異的プライマーによる同定法は、正確にST1-9までのSTを同定することができるが、最大9回のPCRを必要とするため時間と手間を要する。

昨年の先行研究では、TaKaRa / TOYOBO の2社のMultiplex-PCRキットを使用して、2種類または3種類の異なるSTを混合したDNA材料と特異的プライマーを用いて混在STの同時検出法について検討された。今回、より詳細に検討するために、濃度調整したDNAや株数を増やし、さらにKAPA / Applied Biosystems の2社のキットを加えて検討した。数種類のSTの2種類の組み合わせで4社のキットを比較したところ、KAPA社のキットが最も効率よく2種類のSTを増幅した。現在、全てのSTの組み合わせを目指して検討している。

## 2-1

### *Blastocystis* の異なるサブタイプが混在する場合における効率的なサブタイプ同定方法の検討

○船木江理花・吉川尚男

奈良女子大・理・生物

*Blastocystis* は腸管に寄生する嫌気性の真核単細胞生物であり、1912年にヒトの糞便内から発見され、その後さまざまな哺乳類や鳥類、さらに爬虫類、両生類、昆虫類からも分離されている。ヒト由来株間では遺伝的多型が著しいことから、他の哺乳類・鳥類由来株とともに小サブユニット rRNA(SSU rRNA)遺伝子の塩基配列による分子系統学的解析によって 17 種類のサブタイプ(ST)に分類されている。

本研究室では 2016 年に ST1 から ST9 を特異的に検出するプライマーが構築され、複数の ST が混在していても ST を同定することが可能である。一方、2 種類の異なる ST が混在した場合、ST 同定のための RFLP 解析では、一方の ST しか増幅されない可能性が先行研究で示されている。

そこで、混在 ST の DNA 材料の場合、ST 同定のために用いられるプライマーの種類により混在 ST がどのように増幅されるのか、について検証した。

最初に、ST1 から ST9 までの単独 ST の DNA 材料の二段階希釈系列を作製し、ST 同定に使われているプライマーにより PCR 増幅を行い、増幅産物のバンドの濃さが同一となる希釈倍率を決定した。その後、二種類の異なる ST を等量混合し、PCR 増幅を行い、その産物を RFLP 解析して各 ST の増幅量を評価した。SpeI 酵素により ST 同定した結果、445F/RB プライマーによる増幅産物では、ST7 と他の ST の組み合わせの場合、ST1, 2, 6 は ST7 より増幅量が少ない傾向が見られ、一方 ST4 の場合は、ほぼ ST7 と同等に増幅されていた。他の ST の組み合わせについては検討中である。

## 2-2

### Pathogenic features of *Blastocystis* -subtypes in human

○Roselydiah Nasipwondi Makunja<sup>1</sup>, Masaharu Tokoro<sup>1</sup>, Tetsushi Mizuno<sup>1</sup>, Din Syafruddin<sup>2</sup>, Hisao Yoshikawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Glob. Infect. Dis., Grad. Sch. of Med. Sci., Kanazawa Univ.

<sup>2</sup> Dept. of Parasitol. Fac. Med., Hasanuddin Univ., Indonesia

<sup>3</sup> Dept. of Chem., Biol., and Environ. Sci, Fac. of Sci., Nara Women's Univ.

*Blastocystis* spp. is one of the most prevalent intestinal protists. Human isolates are classified into ten subtypes (STs), ST1 to ST9 and ST12 based on their small subunit ribosomal RNA genes (SSU rDNA). The role of *Blastocystis* in diseases is controversial, however, growing evidence suggests that the pathogenicity of *Blastocystis* may be linked to specific STs. We investigated the pathogenic characteristics of *Blastocystis* ST1, 2, and 3 in healthy school-going children under low-hygiene conditions in Sumba Island, Indonesia. Fecal samples were collected from 144 healthy schoolchildren aged 7-15 years old on Sumba Island, Indonesia. The stool consistency was assessed on-site using the Bristol Stool Chart and categorized as normal (1-5) and diarrheal stool (6-7). The presence of *Blastocystis* STs was determined by nested PCR followed by direct sequencing of the *Blastocystis* SSU rDNA gene of the PCR positive samples. The association between *Blastocystis* STs and diarrheal stool was determined by multivariate regression analysis in R. We identified ST1 (55; 48.7%), ST3 (39; 34.5%), ST2 (14; 12.4%), and mixed ST infections (5; 4.4%) among the school children. *Blastocystis* ST1 (OR = 2.06; CI = 0.93-4.69; P = 0.08) was positively associated with diarrheal stool, but ST2 (OR = 0.67; CI = 0.20-2.16; P = 0.49) and ST3 (OR = 0.57; CI = 0.25-1.29; P = 0.18) were not. The probable relationship between ST1 and diarrheal stool suggests that the pathogenicity of *Blastocystis* could be ST-specific, highlighting the need to determine the role of *Blastocyst* ST within the intestinal microbiota to confirm its pathogenicity.

Intra-species genetic taxonomy of *Enteromonas spp.*

○Siti Arifah Lacante<sup>1</sup>, Masaharu Tokoro<sup>1</sup>, Tetsushi Mizuno<sup>1</sup>, Din Syafruddin<sup>2</sup>, Hisao Yoshikawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Glob. Infect. Dis., Grad. Sch. of Med. Sci., Kanazawa Univ.

<sup>2</sup> Dept. of Parasitol. Fac. Med., Hasanuddin Univ., Indonesia

<sup>3</sup> Dept. of Chem., Biol., and Environ. Sci, Fac. of Sci., Nara Women's Univ.

Due to the difficulties of morphological detection of *Enteromonas spp.*, the prevalence has been underestimated, and thus the clinical significance remains unknown. To establish the genetic taxonomy for *Enteromonas spp.*, cross-sectional stool sample collections were conducted in 2013-2016 from elementary school children and livestock animals in Indonesia. Molecular screening of *Enteromonas spp.* was conducted on 215 human and 236 animal samples. PCR amplicons were used in partial sequencing using the 18S rRNA region, and several samples suspected to have more than one haplotype went through subcloning.

The prevalence of *Enteromonas spp.* was 70/215 (32.6%) in humans and 65/236 (27.5%) in animals. Tentatively, confirmed genotypes were 57/215 (26.5%) in humans, 40/236 (16.9%) in animals, and additional 56 genotypes were obtained from the subcloning process.

On the reconstructed phylogenetic tree, we observed various intra-species genotype diversity of this protozoan. At least 3 sub-clusters were addressed among the intra-species genetic diversity of *Enteromonas spp.* Haplotypes from rodents and buffalos were clustered separately from other haplotypes indicating the probability of animal-specific genotype groups in the species. The genetic taxonomy of *Enteromonas spp.* can improve the method of epidemiological study and reveal clinical aspects of this intestinal protozoan parasite.

Genetic taxonomy of genus *Chilomastix*

○Jiang Chuanhao<sup>1</sup>, Masaharu Tokoro<sup>1</sup>, Tetsushi Mizuno<sup>1</sup>, Din Syafruddin<sup>2</sup>, Hisao Yoshikawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Glob. Infect. Dis., Grad. Sch. of Med. Sci., Kanazawa Univ.

<sup>2</sup> Dept. of Parasitol. Fac. Med., Hasanuddin Univ., Indonesia

<sup>3</sup> Dept. of Chem., Biol., and Environ. Sci, Fac. of Sci., Nara Women's Univ.

There are many species name of *Chilomastix* such as *C. mesnili*, *C. caulleryi*, *C. cuspidata*, *C. wenrichi*, *C. cuniculi*, *C. bettencourti*, etc. All those species names have been proposed based on the morphology and host-specificities, therefore lacking systematic molecular definitions. To establish the molecular taxonomy, and conduct more precise molecular epidemiological investigation, we screened 18S small subunit ribosomal RNA (18SrRNA) gene locus among *Chilomastix* spp. detected from humans and animals in Indonesia.

From the collected 65 *Chilomastix*-positive samples, the 18SrRNA partial sequences (1769 bp) were confirmed and phylogenetically analyzed with the reference GenBank sequences. The DNA haplotypes of *Chilomastix* spp. were clustered into 4 sub-genotypes (ST1 to 4). Interestingly, one sub-cluster of *C. mesnili* includes only human-haplotypes (ST1), while other sub-cluster (ST2) includes those haplotypes from pigs and buffalo together with human-derived ones. ST3 was comprised with haplotypes from rodents, duck, and buffalo, and ST4 included only the haplotypes from chicken. The other available reference sequence in GenBank such as *C. wenrichi* (guinea pig), *C. cuspidata* (free-living), and *C. caulleryi* (Amphibians) were all independent, thus were not detected in this study. More references from wider range of host are apparently required to organize the species names and molecular taxonomy of genus *Chilomastix*.

### 3-1

#### 転写因子IWS1によるトキソプラズマ病原性因子の遺伝子発現制御

○端崎恵巳<sup>1</sup>、笹井美和<sup>1,2</sup>、山本雅裕<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>大阪大学微生物病研究所、<sup>2</sup>大阪大学免疫学フロンティア研究センター

トキソプラズマは哺乳類細胞に侵入する際、寄生胞と呼ばれる細胞内小器官を形成する。マウス細胞がトキソプラズマに感染すると、寄生胞膜に IFN- $\gamma$  誘導性の GTPase が集積し、寄生胞膜の破壊を誘導する。

一方、トキソプラズマは自身のオルガネラであるデンスグラニュールやロプトリーから様々なタンパク質（エフェクター分子）を宿主細胞内へ分泌する。強毒株の場合、ロプトリータンパク質 ROP18 などにより、宿主細胞の IFN- $\gamma$  誘導性の免疫機構が抑制される。しかし、それらの病原性因子の発現制御については詳しく知られていない。

本研究では、トキソプラズマ強毒株の IWS1 遺伝子をノックアウトすると、マウス体内及び IFN- $\gamma$  刺激したマウス細胞での生存率が低下することが明らかになった。また、IWS1 のノックアウト変異体では ROP18 の発現低下もみられた。IWS1 はヒトや酵母など幅広い種で保存された転写調節因子として知られるが、本研究より IWS1 がトキソプラズマの ROP18 mRNA の発現を介して病原性を制御している可能性が強く示唆された。

### 3-2

*Toxoplasma gondii* Immunity-Related GTPase b2 (IRGb2) among wild *Mus musculus* and IRGb2 ortholog among *Apodemus speciosus*

○Nikolai D. Shamaev<sup>1</sup>、岩竹優希<sup>2</sup>、鬼頭克也<sup>1、2</sup>、森部絢嗣<sup>3</sup>、高島康弘<sup>1、2</sup>

<sup>1</sup>岐阜大院・共同獣医研究科、<sup>2</sup>岐阜大・応用生物・獣医寄生虫、<sup>3</sup>岐阜大・社会システム経営学環

*Toxoplasma gondii* type I strains are lethal for almost all laboratory mice strains (*Mus musculus*). However, wild-origin CIM, CAST strains (India, Thailand - derived) can be infected with type I *T. gondii* without any symptoms (tolerant). The tolerant mice have IRGb2 of which amino acid (aa) sequence is different from those of laboratory mice. Tolerant IRGb2 can form a complex with the *T. gondii* type I ROP5B protein and inhibit the parasite growth. However, such tolerant mice have not yet been reported in other areas. In this study, we study polymorphisms of aa sequences of IRGB2 among wild *M. musculus* in Gifu, Japan. In addition, we study Irgb2-like gene of wild large Japanese field mouse (*Apodemus speciosus*), the most common rodent in Japan. Wild rodents were captured at farms and field areas and Irgb2 / Irgb2-like genes were sequenced. From totally 8 wild *M. musculus* we found 6 different aa sequences. The expected functional domains of 3/6 aa sequences were completely identical with IRGb2 of CAST strain. It suggests a common presence of type I *T. gondii* tolerant mice in farms in Japan. The aa sequence of the putative functional domain encoded by the Irgb2-like gene of 12 *A. speciosus* captured at several locations in Gifu Prefecture, 18-93 km apart, was identical in all individuals. The sequence was also identical to that of individuals captured in Ibaraki Prefecture. The low diversity suggests the strong positive selection of this gene. Further study is required to understand the biological significance of *A. speciosus* Irgb2-like aa, including its ability to form complexes with type I *T. gondii* ROP5B.

Comprehensive analysis of biomolecules in the extracellular vesicles secreted from *Trichinella spiralis*

○Sukhonthip Khueangchiangkhwang<sup>1</sup>, Zhiliang Wu<sup>1</sup>, Yoichi Maekawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology and Infectious Diseases, Gifu University Graduate School of Medicine

It is well known that extracellular vesicles (EVs) regulate intercellular communication by transferring biomolecules between cells. In the field of helminth infection, EVs were found to transfer small RNAs and proteins to mammalian cells and they are recognized as one of many mechanisms used by helminths to manipulate their host for long-term survival. Although some studies have reported immunoregulatory properties and the proteins in EVs secreted from muscle larvae stage of *Trichinella spiralis*, profiling of biomolecules contained in EVs secreted from *T. spiralis* adult worms are not performed. In this study, we reveal that *T. spiralis* muscle larvae and adult worm secret EVs contain both their own specific and common biomolecules such as proteins and microRNAs (miRNAs), which correspond with our function from our previous study. An interesting finding in this study is the fact that proteins and miRNAs in stage-specific EVs are expressed in both muscle larvae and adult worms, suggesting that muscle larvae and adult worms express the same set of proteins and miRNAs but preferentially pack those proteins and miRNAs into each stage-specific EVs. In addition, we also found that tsp-miR-1a-3p, a common miRNA of EVs secreted from muscle larvae and adult worms, was able to modify host cell response by down-regulating the expression of IL-6 mRNA and protein in macrophages stimulated with LPS. Our data suggested that the EVs derived from two different stages of *T. spiralis* contain both specific and common biomolecules with unique properties which may support their long-term survival in the host.



### 3-4

#### 1回だけで済ませたい！ヒトにもサルにも低負担な鞭虫駆虫法の検討

○徳重江美<sup>1</sup>、兼子明久<sup>2</sup>、前田典彦<sup>2</sup>、大石高生<sup>2</sup>、鈴木樹理<sup>3</sup>、宮部貴子<sup>2</sup>、森本真弓<sup>2</sup>、橋本直子<sup>2</sup>、山中淳史<sup>2</sup>、愛洲星太郎<sup>2</sup>、夏目尊好<sup>2</sup>、井戸みゆき<sup>2</sup>、岡本宗裕<sup>2</sup>

<sup>1</sup>京大大学院・理学研究科、<sup>2</sup>京都大・ヒト行動進化研究センター、<sup>3</sup>京都大・霊長類研究所

鞭虫の駆虫は駆虫薬を数日間服用し続ける方法が一般的である。ヒトや家畜での完遂は可能だが、放飼場やグループケージ飼育の多数頭の霊長類個体群では、投与に隔離や拘束を数日間で何度も繰り返す必要があり、ヒトにもサルにも莫大な負担がかかるため完遂が極めて困難である。京都大学ヒト行動進化研究センターの屋外放飼場は土壌敷設で、鞭虫に限らず土壌伝染性寄生蠕虫の生活環が維持されうる環境であるため、定期健診時にイベルメクチンの1回投与で駆虫を試みていたが、鞭虫への効果は限定的で、実際飼育群から重度の鞭虫症で衰弱したアカゲザルも発見された。そこで、1回の薬剤投与で完全駆虫できる低負担な駆虫法の確立を目指し、複数の薬剤の同時投与で相乗効果を生んだ先行研究例を参考に4剤の同時投与プロトコルを考案した。

衰弱個体が発見された個体群を対象とし、全頭の鞭虫感染状況を糞便内 EPG 測定で把握後、実験群として 15 頭を選抜してコントロール群、イベルメクチン投与群(I 群)、イベルメクチン・ミルベマイシン・アルベンダゾール・メベンダゾールの 4 剤投与群(4 剤群)に分け、数週間 EPG を経時的に測定した後、剖検で成虫個体数を確認した。駆虫前～剖検の期間に血球検査と血液性化学検査も実施し肝臓への負担評価も行った。

結果、I 群では薬剤投与後も鞭虫卵が確認された個体があり剖検で成虫も得られたが、4 剤群では投与後は剖検時まで全個体で EPG ゼロであり成虫もいなかった。よって、今回の 4 剤混合プロトコルは 1 回投与のみで完全な鞭虫駆虫が可能であると実証された。但し 4 剤群では一時的に肝臓マーカー(GPT 等)の上昇がみられたため、肝臓への負担については更に検討が必要である。

# 一般演題

#### 4-1

### 山口県のコウモリから検出された *Lecithodendriidae* 科吸虫の報告

○工藤彩夏<sup>1</sup> 戸倉愛美<sup>1</sup> 下田宙<sup>2</sup> 高野愛<sup>3</sup> 佐藤宏<sup>1</sup> 柳田哲矢<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山口大学・共獣・寄生虫、<sup>2</sup>山口大学・共獣・微生物、<sup>3</sup>山口大学・共獣・疫学

日本においてコウモリは 34 種記載されている。その多くは昆虫食性であり、多種の寄生性蠕虫類の終宿主として知られる。また、日本の哺乳類種の 3 分の 1 を占めており、生態系において重要な位置を占めることが伺える。本研究では、山口県内のコウモリの寄生虫相を調査する中で確認された *Lecithodendriidae* 科吸虫について報告する。

2021～2022 年に山口県内で捕獲した 4 種のコウモリ（計 85 匹）から検出された吸虫を、熱固定した後に 10%緩衝ホルマリンないしは 70%エタノールで保存した。それらを形態学的に同定し、一部の虫体については 28S rDNA の塩基配列を決定した。

今回調べたコウモリから、形態学的に既知の 10 種の *Lecithodendriidae* 科吸虫が同定された。それらのうち、*Acanthatrium* 属吸虫 3 種と *Prosthodendrium* 属吸虫 1 種について 28S rDNA の塩基配列を決定した。その結果、*Acanthatrium ovatum* あるいは *Acanthatrium isostomum* と同定した虫体間で、28S rDNA の塩基配列は 100%一致した。一方で、*Acanthatrium setoense* と同定した虫体の塩基配列とは 2.2%の違いが見られた。BLAST 検索では、いずれも国内のカワニナから検出された *Lecithodendriidae* 科吸虫の幼虫と高い相同性を示した (98.6-100%)。 *Prosthodendrium thomasi* と同定された虫体についても、北海道のカワニナから検出された *Lecithodendriidae* 科吸虫の幼虫と 100%一致した。

国内のコウモリに寄生する吸虫類については、塩基配列情報の蓄積が少なく、生活環が不明なものも多く残されている。残りの標本についても遺伝子解析を進め、*Lecithodendriidae* 科吸虫の分類を再検討するとともに、生活環の解明につなげたい。

## 4-2

山口県内のコウモリから見つかった *Plagiorchis* 属吸虫

○戸倉愛美<sup>1</sup>、工藤彩夏<sup>1</sup>、下田宙<sup>2</sup>、高野愛<sup>3</sup>、佐藤宏<sup>1</sup>、柳田哲矢<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山口大学・共獣・寄生虫、<sup>2</sup>山口大学・共獣・微生物、<sup>3</sup>山口大学・共獣・疫学

日本国内に生息するコウモリの消化管からは多種の吸虫類が記載されている。本研究では、山口県内のコウモリの保有ウイルス調査に際して見出された *Plagiorchis* 属吸虫について、形態観察と遺伝子解析を行った。

2021–2022年に山口県内で捕獲されたキクガシラコウモリ 27 匹、コキクガシラコウモリ 6 匹、モモジロコウモリ 15 匹、ユビナガコウモリ 37 匹の腸内容物を精査した。得られた吸虫は熱固定した後、10%緩衝ホルマリン溶液または 70%アルコール中で保存し、一部は圧平標本に供した。形態観察ののち、一部の虫体については 28S リボソーム RNA 遺伝子 (28S rDNA) 領域の塩基配列を決定した。

今回調べたコウモリのうち、キクガシラコウモリ 2 匹とユビナガコウモリ 1 匹から *Plagiorchis* 属吸虫が計 8 虫体得られた。形態観察の結果 *Plagiorchis koreanus* と *Plagiorchis rhinolophi* の 2 種に同定された。一方で、これらの 8 虫体から得られた 28S rDNA の配列は 100%一致した。BLAST 検索では、チェコのコウモリやイタリアのアライグマから検出された *P. koreanus* と高い相同性を示した (99.8-100%)。

国内のコウモリからは 7 種の *Plagiorchis* 属吸虫が記録されているが、塩基配列情報が登録されているのはその内の 2 種のみである。今後は、詳細な形態観察に加えて塩基配列情報も利用した分類の再検討が必要だと思われる。

#### 4-3

##### Genetic diversity of bat haemosporidian parasite, *Polychromophilus* spp., in Japan

○Imron Rosyadi<sup>1</sup>, Bayanzul Argamjav<sup>1</sup>, Hiroshi Shimoda<sup>1</sup>, Ai Takano<sup>1</sup>, Tetsuya Yanagida<sup>1</sup>, Hiroshi Sato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Joint Graduate School of Veterinary Medicine, Yamaguchi University

Bats (order Chiroptera) are infected by various intra-erythrocytic parasites of the family Plasmodiidae (Apicomplexa: Haemosporida), including *Polychromophilus* Dionisi, 1899. Recent advance in the molecular characterization of haemosporidian parasites has enabled their accurate specific identification. Studies are actively conducted in tropical regions, Europe, and Australia; however, data on haemosporidian infection in bats in Asian temperate areas, including Japan, remain limited. A total of 75 bats of four species (*Miniopterus fuliginosus*, *Myotis macrodactylus*, *Rhinolophus nippon*, and *Rhinolophus cornutus*) were captured in February and September 2021 at three locations in western Japan (Yamaguchi Prefecture) and analyzed for the presence of haemosporidian infections microscopically and molecularly using nested polymerase chain reaction (PCR) targeting the cytochrome *b* (*cytb*), cytochrome *c* oxidase subunit I (*cox-1*), apicoplast caseinolytic protease C (*clpc*), and nuclear elongation factor 2 (EF2) genes. Bat flies (*Nycteribia allotopa* and another undetermined *Nycteribia* sp.) were also examined. Microscopic examination detected gametocytes of *Polychromophilus* spp. in miniopterid (*M. fuliginosus*) and vespertilionid (*M. macrodactylus*) bats, whereas none of the 25 rhinolophid bats (*R. nippon* and *R. cornutus*) were infected. Molecular analyses confirmed that 15 (40.5%) *M. fuliginosus* were infected by *Polychromophilus melanipherus* while 6 (46.2%) *M. macrodactylus* by *Polychromophilus murinus*, indicating rigid host specificity. No *Hepatocystis*, *Nycteria* and *Plasmodium* were infected. *Polychromophilus* isolates showed a spectrum of genetic diversity (multiple haplotypes for each species, but close to those recorded in other regions such as Africa and Europe). This is the first record of haemosporidian parasites, *Polychromophilus* spp., in bats and bat flies in the temperate area of Asia (Japan).

#### 4-4

ヘビの胆管に寄生する吸虫*Paradistomum megareceptaculum*の形態及び分子学的解析

○巢瀬 哲矢<sup>1</sup>、林 慶<sup>1</sup>、宇根 有美<sup>2</sup>、柴原 壽行<sup>1</sup>、黒木 俊郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大・獣医・医動物学、<sup>2</sup>岡山理科大・獣医・獣医病理学

*Paradistomum*属吸虫は29種が知られている。その内、5種がヘビを終宿主としており、日本では*P. megareceptaculum* と*P. habui* の2種が報告されている。*Paradistomum*属吸虫は形態学的分類のみによって種が決められているが、未解決な点も残されている。そのため分子学的な分類を検討する必要があるが、これまでに本属の遺伝子情報は報告されていない。そこで、本研究では*P. megareceptaculum* の形態及び分子学的解析を試みた。

愛媛県及び広島県産のアオダイショウ及びシマヘビ計7匹の胆管及び胆嚢より得られた吸虫31隻を70%エタノールで固定し、22隻を染色して形態学的特徴を解析した。また、28隻の虫体について体組織の一部からDNAを抽出し、リボソームDNAの18S領域およびミトコンドリアDNAのcytochrome c oxidase subunit I (*COI*)領域の塩基配列をPCRダイレクトシーケンス法によって決定した。18S領域の塩基配列を用いて最尤推定法によって系統樹を作成した。また、*COI*領域の塩基配列を用いて遺伝子ネットワークを作成した。

Kifune(1977)は*P. megareceptaculum* と*P. habui* の形態学的鑑別点として、口吸盤と腹吸盤の大きさの比や卵黄腺の長さによる基準を設けた。それらの形態学的特徴から本研究の虫体は*P. megareceptaculum* であると同定された。次に、18S領域の塩基配列は、解析した全ての虫体が同一の配列を示した。18S領域の系統樹において、*P. megareceptaculum* は二腔吸虫科のLeipertrematinae亜科クレードに含まれ、本属がLeipertrematinae亜科に属することが分子学的にも確認された。また、*Paradistomum*属はLeipertrematinae亜科の中で最も古く分化したグループであることが示唆された。一方、*COI*領域からは2つのハプロタイプが検出され、ネットワーク解析の結果、1虫体を除く27虫体が単一の主要ハプロタイプを示していた。このことから、日本に分布する*P. megareceptaculum* の遺伝的多様性は非常に低いことが示唆された。

## 5-1

### マンソン裂頭条虫プレロセルコイドにおける細胞外小胞のマクロファージに与える影響

○谷口莉楓<sup>1</sup>、近藤陽子<sup>1</sup>、伊藤大輔<sup>1</sup>、蓼本早百合<sup>2</sup>、大槻 均<sup>1</sup>、

<sup>1</sup>鳥取大・医・医動物学、<sup>2</sup>鳥取大・技術部

マンソン裂頭条虫のプレロセルコイド（幼虫）は、宿主の組織内に寄生するが、虫体周囲に顕著な炎症反応は認められない。このことから幼虫は宿主免疫を制御していると推測される。これまで当研究室では、幼虫が分泌するexcretory/secretory products（ES物質）がマクロファージの一酸化窒素（NO）、及び TNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインの産生を抑制することを報告してきたが、その機序はよく分かっていない。本研究では肝蛭や旋毛虫などにおいて宿主免疫を抑制することが報告されている細胞外小胞（extracellular vesicles; EVs）に着目し、マンソン裂頭条虫の幼虫が分泌するEVsについて解析した。

EVsは夾雑物を除去したES物質から超遠心分離により得た。透過型電子顕微鏡とナノトラッキング解析によりEVsの形状を解析し、間接蛍光抗体法を用いて虫体内でのEVsの局在を明らかにした。次に、PKH-67でラベルしたEVsをRAW264.7に添加し、EVsがマクロファージに取り込まれることを確認した。EVsがマクロファージに与える影響を調べるために、EVsをRAW264.7に添加後、LPS刺激を行った。培養上清中のNOの濃度測定を行った結果、EVs添加群ではコントロール群と比較してNO濃度が有意に低下した。また細胞から抽出したRNAを用いたリアルタイムPCRの結果、EVs添加群ではコントロール群と比較してTNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6の発現抑制が確認された。以上のことからマンソン裂頭条虫プレロセルコイドはEVsを介して宿主免疫を抑制することが明らかとなった。

## 5-2

TSLPはCD4依存性、非依存性の両経路で*Strongyloides venezuelensis*感染に対する抵抗性に貢献する

○安田好文<sup>1</sup>、鯉田篤英<sup>1,2</sup>、足立匠<sup>1</sup>、松下一史<sup>1</sup>、黒田悦史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>兵庫医科大・医・免疫学、<sup>2</sup>京都府立医大・医・耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

上皮細胞由来のサイトカインの1つであるThymic stromal lymphopoietin (TSLP)は上皮細胞などから産生され、抗原提示細胞を刺激することで2型免疫応答を誘導する。これまで線虫感染におけるTSLPの役割に関する報告はいくつかあるが、虫種によってその影響は異なる。*Strongyloides venezuelensis* (Sv)感染に対するTSLPの役割は不明であったため、TSLP受容体欠損マウス (*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウス)を用いてSv感染マウスにおけるTSLPの役割を調べた。Sv感染後の腸管内の成虫数と糞便1gあたりの虫卵数 (EPG)を調べた結果、*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウスではWTマウスに比べ成虫数もEPGも多く、TSLPはSv感染に対する抵抗性に重要であると考えられた。また、実際にSvが感染したマウスでは皮膚、肺、小腸の各臓器で通過する時期にTslp mRNA発現の上昇がみられた。次にTSLPが体内のどの臓器でSv排除に作用するのかを明らかにするため、感染後の肺と小腸における虫数を経時的に調べた結果、WTマウスに比べ*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウスの肺では感染3日目に多く、小腸では4, 5日目に著しく多かった。また、感染後の*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウスの小腸では肥満細胞と好塩基球のマーカであるMcpt1, Mcpt2, Mcpt8の発現が低いことから、これらの細胞の関与が示唆された。腸粘膜肥満細胞の誘導にはTh2細胞が重要であるが、Sv感染後の腸間膜リンパ節細胞のTh2サイトカイン産生能を調べた結果、*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウスでは感染後7日目以内という比較的早期のTh2誘導が減弱していた。そこで、TSLPによる感染抵抗性におけるTh2細胞の役割を検討するため、Sv感染の前後で抗CD4抗体を投与しCD4陽性T細胞を除去したところ、WTマウスも*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウスも非投与群と比較してEPG、成虫数ともに増加したが、抗CD4抗体投与によって*Cr1f2*<sup>-/-</sup>とWTは同等にはならず、依然として*Cr1f2*<sup>-/-</sup>マウスはWTマウスより多数の感染数が見られた。このことからTSLPはCD4陽性T細胞を介する経路のみでなく、介さない経路でもマウスのSv感染に対する抵抗性に関与することが示された。



## 5-3

### 組織透明化技術を用いた*Taenia saginata*の解析

○王寺幸輝、佐々木美有、三須政康、北村知嵩、西村知子、吉川正英  
奈良県立医科大学 病原体・感染防御医学

ヒトに感染する*Taenia*属条虫には有鉤条虫、無鉤条虫、アジア条虫が知られている。有鉤条虫のヒトへの感染は、囊虫症を引き起こすため、何れの条虫に感染したかの判断は非常に重要となる。形態学的判別には通常、虫体体節の圧平標本を用いるが、その工程や手技が煩雑である。近年、透明化技術を用いて組織、あるいは臓器レベルでの解析が進んでいる。透明化とは、透明化溶液により内部を均一化し、屈折率の補正により光の透過度を向上させる方法であり、Scale法、CUBIC法、DISCO法、CLARITY法、SeeDB法などが開発されている。寄生虫（蠕虫）の形態学的判別に透明化法を用いた報告はこれまでに無い。今回、*Taenia saginata*（無鉤条虫）の透明化およびその組織学的解析を行った。虫体の透明化により、内部構造（子宮側枝など）の明瞭化に成功した。通常、検体の確定には、墨汁染色等の技術を要するが、透明化によりその工程を省略し、判別が可能となった。また、透明化した虫体は、圧平標本に比べ器官形状を維持したまま観察することが可能となり、蛍光観察を駆使することで、虫体内部構造の更なる解析を可能とした。*Taenia*属条虫症の判別・解析に、透明化技術は有用であると考えられる。

## 5-4

条虫の1種である*Mesocestoides vogae*のテトラチリジウムの宿主血液成分による無性生殖の開始

○榊原秀雄、齋藤大蔵、鬼頭克也、高島康弘  
岐阜大 獣医寄生虫病学

【背景・目的】 *Mesocestoides*属の条虫の一種、*Mesocestoides vogae*の幼虫であるテトラチリジウムは、犬やマウスなどの宿主腹腔内において頭部の分裂から始まる二分裂により無性生殖で増殖する。これまでに私達は、頭部が既に分裂し始めている個体について、虫体同士の接触がその後の分裂の進行を促進することを報告している。しかし頭部の分裂の開始、すなわち無性生殖の始点を誘導する因子については明らかにされていない。そこで本研究では、テトラチリジウムの無性生殖の開始に必要な因子を同定することを目的とした。

【材料と方法】 *M.vogae*感染マウス腹腔内から取り出したテトラチリジウムのうち、既に分裂を開始した2頭を持つ虫体を除き、分裂開始前の1頭の虫体のみを選別した。この虫体25匹をFCS 20%を含むRPMI培地(基本培地)1ml中にて37°C、5% CO<sub>2</sub>で1週間培養した。また、その培地の半量をマウス血清に置き換えた培地において同様に培養した。さらに、血清を限外濾過により100KDa以上、以下の2分画に分離した培地を用い、同様に培養した。

【結果】 基本培地中ではテトラチリジウムはほとんど分裂を開始しなかった。対して、血清を加えた培地では高頻度に虫体頭部の分裂が見られた。限外濾過により分離した血清では、100KDa以上の分画を含む培地でのみ高頻度に頭部の分裂が生じた。

【考察】 *M.vogae*のテトラチリジウムの無性生殖の開始には、宿主の血清に含まれる100KDa以上の因子が必要であることが示された。

南シナ海産アジ科市販魚からの*Unicapsula seriolae*および新種*Unicapsula aequilobata*の検出

○井上 健<sup>1</sup>、李 迎春<sup>2</sup>、章 晋勇<sup>3</sup>、柳田哲矢<sup>1</sup>、佐藤 宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山口大院・共同獣医学研究科、<sup>2</sup>広東海洋大学、<sup>3</sup>青島農業大学

我々の研究室では中国共同研究者とともに南シナ海産の市販魚から *Kudoa* 属あるいは *Unicapsula* 属粘液胞子虫(多殻目)の確認を進めている。ヒラメ寄生の *Kudoa septempunctata* に代表される生鮮魚喫食後の下痢や嘔吐はクドア食中毒として知られているが、これに類した有症苦情事例(短期間の水様性下痢)は *Unicapsula seriolae* が寄生する生鮮カンパチ(*Seriola dumerili*)喫食によっても頻発している(大西ら 2018)。3つの殻片に囲まれ、1つの大きな極囊と2つの痕跡的な極囊で特徴づけられる胞子をもつ *Unicapsula* 属粘液胞子虫は主として海産魚の筋線維にシュードシストを形成して寄生し、これまでに世界から 15 種が知られている。Li et al. (2020)で報告した共同研究により、*Unicapsula* 10 種についてかなり詳細なりボソーム RNA 遺伝子(rDNA)塩基配列を整理できた。本発表では、南シナ海各種海産魚からその後見つかった *Unicapsula* spp.について報告する。2019 年 6 月に広東省湛江市で購入したホソヒラアジ (*Selaroides leptolepis*) 14 尾中 8 尾から新種 *Unicapsula aequilobata*、広西チワン族自治区北海市で購入したマルアジ(*Decapterus maruadsi*) 4 尾中 1 尾から *U. seriolae* を検出した(Inoue et al. 2021)。*U. seriolae* は豪州のヒラマサ(*Seriola lalandi*)、日本近海のヤイトハタ(*Epinephelus malabaricus*)やカンパチで寄生記録がある。*U. aequilobata* は 2020 年 3 月に広東省湛江市で購入したクサヤモロ (*Decapterus macarellus*) 2 尾中 2 尾からも検出した(Li et al. 2022)。*Unicapsula* 属粘液胞子虫は胞子形態による種鑑別が難しいが、その rDNA 塩基配列は 3 つの遺伝子型が確認された *Unicapsula andersenae* を除いてほとんど種内変異がみられていない。アジ科魚類は身近な生鮮魚として人気があることから、公衆衛生学的視点から今後も多殻目粘液胞子虫寄生に注意が払われることが望ましいと考える。

## 6-2

太平洋産アジ科市販魚からの*Kudoa trachuri*および新種*Kudoa longichorda*の検出

○井上智義<sup>1</sup>、笠井亨浩<sup>2</sup>、井上 健<sup>2</sup>、李 迎春<sup>3</sup>、章 晋勇<sup>4</sup>、柳田哲矢<sup>1,2</sup>、佐藤 宏<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>山口大・共同獣医・寄生虫、<sup>2</sup>山口大院・共同獣医学研究科、<sup>3</sup>広東海洋大学、<sup>4</sup>青島農業大学

我々の研究室では、ヒラメ寄生の *Kudoa septempunctata* に代表される複数の *Kudoa* 属粘液胞子虫がクドア食中毒(下痢や嘔吐)の原因となることから、国内で市販される海産魚での本属粘液胞子虫の寄生状況の確認を進めるとともに、種鑑別が容易に実施されるべく分子的な基盤データの収集に努めている。ヒラメ(*Paralichthys olivaceus*)寄生種として知られる *Kudoa septempunctata* は、最近、ウマヅラハギ(*Thamnaconus modestus*)、クサフグ(*Takifugu alboplumbeus*)、シロギス(*Sillago japonica*)でも寄生が確認され、4科に分類される自然宿主(保虫宿主)の存在が注目されている (Kasai et al. 2016; Shirakashi et al. 2021)。西日本近海産マアジ(*Trachurus japonicus*)の寄生種として知られてきた *Kudoa trachuri* について他種アジ科魚類での寄生を確認するために、西日本沖北西太平洋で漁獲されたシマアジ(*Pseudocaranx dentex*)、アカアジ(*Decapterus akaadsi*)、ムロアジ(*Decapterus muroadsi*)、オアカムロ(*Decapterus tabl*) 各6尾を精査したところ、4種のすべてにおいてその2-3尾の体側筋に *K. trachuri* の長径0.5-2mm 楕円の白色シスト2-46個が確認された。また、また、オアカムロ4尾の体側筋にシュードシストを形成する新種 *Kudoa longichorda* が検出された(Folia Parasitologica 2022 [in press])。筋グラム当たり4-78本の筋線維に寄生がみられ、胞子は6.0-6.8 $\mu$ m径と小型であった。本種は、最近になって、中国広東省湛江市沖の南シナ海産のモロアジ(*Decapterus macrosoma*)28尾中1尾でも確認された(Li et al. 2022)。既知種の宿主体の確認とともに、未知種の検出も続いている。現在取り組んでいる西日本近海産のニザダイ(*Prionurus scalprum*)での *Kudoa* sp.寄生を例にとり、私たちの研究の実際についても紹介したい。

## 6-3

ウインドウレス鶏舎におけるワクモ数と絶対湿度の関係についての解析

○上羽智恵美<sup>1,2</sup>、新井明治<sup>2</sup>

<sup>1</sup>京都府農林水産技術センター畜産センター、<sup>2</sup>香川大・医・国際医動物学

ワクモ(*Dermanyssus gallinae*) は、鶏に寄生する吸血ダニとして養鶏産業で被害が顕在化している。我々は鶏舎環境とワクモ生息数の関係を解明するため、2014年から大型養鶏場に生息するワクモ分布状況とともに、温度・相対湿度などの環境評価法を使用した調査を行い、これまでその調査結果を報告してきた(第70回・第71回・第75回支部大会)。今回我々は、温度と相対湿度から算出される絶対湿度という指標を用いて、ワクモ数の変化との関係を解析したので報告する。

[材料と方法] 調査は2014年～2016年9月にかけて、大規模のウインドウレス鶏舎を対象に実施した。鶏舎を15の区画に分割し、区画ごとに温度・相対湿度・ワクモ捕獲数を計測するとともに、別の2点で温度・相対湿度の連続計測を行った。また、温度と相対湿度から絶対湿度を算出した。

[結果]絶対湿度とワクモ数の関係を検討したところ、7～15g/m<sup>3</sup>未満の区間(A域)でワクモが多く捕獲され、15g～22g/m<sup>3</sup>未満の区間(B域)で捕獲数が減少、22g/m<sup>3</sup>以上(C域)ではほとんど捕獲されないことがわかった。月別に検討したところ、7月からC域に達する日が顕著となり、8月にはC域が増加し、9月から10月にかけて漸減した。C域の増加に少し遅れてワクモ数の減少が認められた。

[考察]ワクモ数の動態には絶対湿度の変化が影響していると考えられる。しかし絶対湿度だけでワクモ数の変化を説明することはできず、高温環境での相対湿度の影響も考慮する必要がある。鶏舎での環境因子とワクモ数の関係を明らかにすることで、新たな防除法の開発に貢献できると考える。

*Giardia intestinalis* assemblage Bの遺伝子流動についての解析と考察

○水野 哲志<sup>1</sup>、市村 宏<sup>1</sup>、Syafuruddin Din<sup>2,3</sup>、Songok E. Maritim<sup>4</sup>、所 正治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>金沢大・医・国際感染、<sup>2</sup>Eijkman Inst. Mol. Biol、Dep、<sup>3</sup>Dep.Parasitol. Fac. Med、<sup>4</sup>Kenya Med. Res. Inst

*Giardia intestinalis* assemblage B はヒトを含む幅広い脊椎動物から検出がされ、サブクラスの中においてさえ多様な遺伝子多型が報告されている。本研究では、この遺伝子多型に着目し、過去に起こった地域間での assemblage B の遺伝子流動の痕跡を検出することを目的としている。

ケニア (Kisumu)、インドネシア島嶼部 (Weetabla、Wainyapu) の3箇所で収集されたヒト糞便検体から assemblage B 陽性検体を同定した。得られた検体の glutamate dehydrogenase (GDH)領域、triosephosphate isomerase (TPI)領域、beta-giardin (BG)領域をそれぞれ増幅したPCR産物をクローニングし、1検体内に含まれる複数ハプロタイプを各遺伝子領域ごとに検出した。

得られたハプロタイプ数は Kisumu 由来の検体から 67/84/72 (GDH/TPI/BG) (検体数=8)、Weetabla 由来検体から 40/58/47 (検体数=5)、Wainyapu 由来検体からは 39/44/38 (検体数=6)となった。得られたハプロタイプ情報を、多次元尺度構成法を用いて解析することにより、ケニア-インドネシアでの遺伝子流動、およびインドネシア内での局地的な遺伝子流動の痕跡を検出した。

本発表では、これらの所見について詳細なデータを提示し考察を行う。

## 7-2

アフリカトリパノソーマ原虫でコピー数多型を示すSAHH遺伝子の配列解析

○中西雅之

松山大・薬・生化学

SAHHはS-アデノシルホモシステイン (SAH) をアデノシンとホモシステインに加水分解する酵素であり、細胞内でのメチル化サイクルの進行に必要である。メチル化サイクルは、タンパク質翻訳後修飾としてのメチル化やDNA/RNAのメチル化などに影響する。SAHHは、ヒトをはじめとする哺乳動物で必須であり、アフリカトリパノソーマ症の原因となる *Trypanosoma brucei* でも機能している。 *T. brucei* のSAHHをコードする遺伝子は、ゲノムデータベース上ではシングルコピーとなっているが、実際にはコピー数多型が存在し、当研究室の株はゲノムあたりSAHH遺伝子を2コピーおよび3コピー有するヘテロ接合型であることが明らかになった (*T. brucei* は二倍体)。しかし、これら複数の遺伝子が同一配列のコピーなのか、構造が一部異なるのアイソザイムをコードしているのかは不明であった。そこで、本研究では超ロングリードのナノポアシーケンサーを用いて繰り返し領域の配列決定を実施した。

その結果、当研究室で用いている *T. brucei* Lister 427由来single-marker株の計5つのSAHH遺伝子はいずれも同じ塩基配列を示すことが明らかになった。すなわち、 *T. brucei* に見られるコピー数多型は、遺伝子重複の結果であると示唆された。哺乳類では、SAHHとアミノ酸配列で約80%の相同性を示すものの加水分解活性を失ったSAHH-like protein 1および2が存在し、それらがIP<sub>3</sub>受容体と結合してイオンチャネルやイオントランスポーターを制御すると報告されているが、そのような制御機構は *T. brucei* には無いと考えられた。

## 7-3

$\beta$ -1,3-glucan はアカントアメーバの嚢子壁の構成成分として重要である。

○山田 稔<sup>1</sup>, 中屋隆明<sup>1</sup>, 福岡秀記<sup>2</sup>, 稲富 勉<sup>2</sup>, 外園千恵<sup>2</sup>, 横井則彦<sup>2</sup>, 木下 茂<sup>2</sup>

<sup>1</sup>京都府立医大・院・感染症態学、<sup>2</sup>同眼科学

アカントアメーバの嚢子壁には cellulose が含まれていることが知られている。今回、我々は真菌壁を染め出すファンギオール Y 染色液でアカントアメーバの嚢子壁が染色されることから嚢子壁に  $\beta$ -1,3-glucan が含まれていることに着目し、その合成阻害薬であるミカファンギンを用いて *in vitro* 下で栄養型の嚢子壁形成に及ぼす影響を調べた。

[材料及び方法] ミカファンギンのアカントアメーバ嚢子形成に対する効果を調べるため、嚢子形成培地を用いて、栄養型虫体に対して、種々の濃度 (50, 100, 250, 500  $\mu\text{g/ml}$ ) のミカファンギンを添加して 1 週間培養し、栄養型が嚢子へ変化する過程で虫体の発育、形態を光学顕微鏡的に観察した。

[結果] 予備試験でミカファンギン 500  $\mu\text{g/ml}$  以下の低濃度では嚢子形成阻害効果が不十分であったので、ミカファンギンを 500  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で栄養型の嚢子への形成阻害を調べたところ、小数の嚢子が残存するものの、殆どが栄養型 (8 割以上) のままであることが分かった。一方、対照群では二重の嚢子を含む一重の嚢子が多数観察された。またミカファンギンを添加された場合、残存した栄養型の多くは著しく小型化していたが、再び新しい培地に戻すと増殖した。

[まとめと考察] 以上のことよりアカントアメーバの嚢子壁が、 $\beta$ -1,3-glucan で構成され、ミカファンギンにより嚢子壁の合成が阻害されることが判明した。角膜炎進行の初期段階でミカファンギンを投与すれば、栄養型から嚢子への形成が阻害され、その後に適当な消毒薬や抗真菌剤を併用し栄養型を殺虫できれば治療効果が増強されるかもしれない。



## Olyset®Plusによる天井式蚊帳を用いたクラスターランダム化比較試験

○加賀谷渉<sup>1,2</sup>, Chim W Chan<sup>1</sup>, James Kongere<sup>1</sup>, Bernard N Kanoi<sup>2</sup>, Mtakai Ngara<sup>2,3</sup>, Protus Omondi<sup>1</sup>, Ashley Osborne<sup>4</sup>, 皆川昇<sup>5</sup>, Jesse Gitaka<sup>2</sup>, 金子明<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>大阪公立大・医・寄生虫学、<sup>2</sup>マウントケニア大・RD部門、<sup>3</sup>カロリンスカ研・微生物・癌・細胞学、<sup>4</sup>ロンドン熱帯医学校、<sup>5</sup>長崎大学・熱研

長期残留殺虫剤処理蚊帳は重要なマラリア媒介蚊対策ツールとして、2000年以降の世界的なマラリア流行の縮小に貢献してきた。一方で、学童を中心とした一部の集団は蚊帳を使用せず、十分な予防効果が得られていないため、残存するマラリア伝播に寄与している。我々は、家屋全体の天井を蚊帳素材で覆う天井式蚊帳が、室内への蚊の侵入を防ぎ、かつマラリアを他へ媒介しうる吸血後の蚊を殺滅することで、その課題を解決するものと考えた。また、共力剤ピペロニルブトキシドによって既存の殺虫剤抵抗性蚊に対しても有効となっているOlyset®Plusの蚊帳素材と組み合わせることで、さらに強力な媒介蚊対策法になると考え、その有効性を、ケニア・ヴィクトリア湖内のムファンガノ島におけるクラスターランダム化比較試験により検証することとした。2000世帯を20のクラスターに分け、半数ずつを介入群、対照群とし、学童を対象とした横断的調査による半年、一年後のマラリア感染率、ならびに全年齢を対象としたコホートにおける一年間の累積マラリア感染発生率によってその効果を評価することとした。半年後の中間評価において、学童の感染率において、対照群26.8%(207/772)、介入群13.1%(117/892)と有意な差が認められた( $p<0.001$ )。また、コホートのRDTによる累積マラリア感染発生率についても、対照群9.4%(118/1258)に対し、介入群3.4%(52/1509)と同様に有意な減少が認められた( $p<0.001$ )。これらの結果は、Olyset®Plusによる天井式蚊帳がさらなる感染抑制に有用である可能性を示唆する。今後、介入1年後の評価、PCRによる低原虫濃度感染を含めた評価を行うとともに、対照群へも介入を拡大するステップウェッジデザインにより、実装にむけた検証を進める。

## 熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期における寄生胞膜動態の解析

○伊坂恵里奈<sup>1</sup>、岡田小夏<sup>1</sup>、面田彩馨<sup>1</sup>、橘真由美<sup>2</sup>、石野智子<sup>3</sup>、鳥居本美<sup>2</sup>、入子英幸<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸大院・保健・国際感染症対策、<sup>3</sup>愛媛大・PROS・寄生病原体学、<sup>4</sup>東京医科歯科大・  
寄生虫学熱帯・熱帯医学分野

熱帯熱マラリア原虫は赤血球侵入時に寄生胞膜を形成する。この寄生胞膜は、原虫タンパク質の宿主細胞側への輸送や栄養の取り込みなどの原虫-宿主間の物質輸送に関与している。赤血球寄生ステージは、48時間周期で発育・増殖を繰り返す無性生殖期、10-12日間で成熟する生殖母体期に大別される。長時間寄生状態を保つ生殖母体期の寄生胞膜には、無性生殖期とは異なるメカニズムが必要になると予想されるが、その詳細は明らかにされていない。そこで我々は、生殖母体期の寄生胞膜に発現する Pfs16 に着目し、Pfs16 抗体を用いた免疫電顕により生殖母体の発育に伴う寄生胞膜の変化を詳細に観察した。

本研究では、コムギ胚芽無細胞系を用いて Pfs16 組換えタンパク質を合成し、それを抗原として特異抗体を作出した。Pfs16 抗体の反応性は、ウエスタンブロット、間接蛍光抗体法により確認した。Pfs16 抗体を用いた免疫電顕では、生殖母体の寄生胞膜の多重膜化が観察され、多重膜構造に Pfs16 抗体の結合を示す金コロイド粒子の付着が観察された。さらに、成熟生殖母体のサイトストームおよび輸送小胞を観察したところ、内部に Pfs16 陽性の多重膜が観察された。これらの結果から (1) 生殖母体の寄生胞膜にみられる多重膜構造には Pfs16 が局在すること、(2) 成熟生殖母体において寄生胞膜の多重膜構造の一部が原虫内部に取り込まれることが明らかとなった。今後、Pfs16 抗体を用いた共免疫沈降実験と質量分析により、Pfs16 と相互作用する分子の探索を行う予定である。

## マラリア原虫タンパク質の超微細局在解析のためのAGIAタグシステムの応用

○森田将之<sup>1</sup>、Kanoi Bernard<sup>1</sup>、新澤直明<sup>2</sup>、窪田理恵<sup>2</sup>、竹田浩之<sup>3</sup>、澤崎達也<sup>4</sup>、坪井敬文<sup>4</sup>、高島英造<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 愛媛大・PROS・マラリア研究、<sup>2</sup> 東医歯大院・医歯学・国際環境寄生虫病学、<sup>3</sup> 愛媛大・PROS・プロテオ創薬科学、<sup>4</sup> 愛媛大・PROS・無細胞生命科学

赤血球期マラリア原虫タンパク質の細胞内局在解析は、赤血球寄生メカニズムの解明に重要である。しかしメロゾイトは直径約1  $\mu\text{m}$  と非常に小さく、詳細な局在解析には免疫電子顕微鏡法 (IEM) を用いる必要がある。しかしマラリア原虫を対象とした IEM に使用可能なタンパク質タグは、市販の抗タグ抗体の質によって実験結果が大きく変化する点、またタグのサイズが大きく標的分子の局在や機能を変化させる点が問題として指摘されてきた。そこで本研究では、近年我々が開発したヒト・ドーパミン受容体 D1 由来の AGIA タグ (EAAAGIARP) と、それを認識するウサギ抗 AGIA モノクローナル抗体 (mAb) を赤血球期原虫の細胞内タンパク質局在解析に応用した。メロゾイトのデンスグラニュールタンパク質である RESA の C 末に AGIA タグを融合したプラスミドを作成し、原虫に導入した。また CRISPR/Cas9 を利用して食胞膜タンパク質 MDR1 の C 末に AGIA タグを融合したトランスジェニック原虫を作出した。ウエスタンブロッティングと IFA により赤血球期原虫に発現した RESA-AGIA および MDR1-AGIA を良好な感度で特異的に検出することができた。さらにウサギ抗 AGIA mAb に加え内在性 RESA を認識するマウス抗 RESA mAb を用いて二重染色し IEM を行った結果、RESA-AGIA は内在性 RESA と同一のデンスグラニュール内に共局在することを確認できた。以上より、本システムで再現性の良い IEM が可能と考えられる。我々は現在、本システムを新規デンスグラニュールタンパク質候補の局在解析に応用して研究を進めている。

## 2 剤併用によるマラリア治療効果の検証

○松森 宏明<sup>1</sup>、井黒 香奈子<sup>1</sup>、Dinh Thi Quyen<sup>1</sup>、光永 朋樹<sup>1</sup>、右馬野 葉<sup>2</sup>、松尾 美咲<sup>2</sup>、高橋 沙和<sup>2</sup>、Nagwa S. M. Aly<sup>1,3</sup>、三好 伸一<sup>4</sup>、Kyung-Soo Chang<sup>5</sup>、金 惠淑<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 国際感染症制御学分野、<sup>2</sup>岡山大学 薬学部 国際感染症制御学分野、<sup>3</sup>Department of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Benha University, Egypt、<sup>4</sup>岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 衛生微生物化学、<sup>5</sup>Department of Clinical Laboratory Science, College of Health Sciences, Catholic University of Pusan, Korea

当研究室では新規抗マラリア薬候補としてペルオキシド構造を持つ有機化合物(N-89)を見出している。この化合物は *P. berghei*、*P. knowlesi* に対して経口投与や経皮投与で完治することが分かっている。一方、マラリアの第一治療法は Artemisinin Combination Therapies が WHO によって推奨されており、実際の臨床現場では N-89 に既存の抗マラリア薬を併用して使用することが予想される。

私たちは、N-89 と既存抗マラリア薬を併用して抗マラリア活性を評価したので、その結果を報告する。

経皮吸収型製剤の基剤として PEG400 : PEG4000=8 : 1 を用い、N-89 と既存抗マラリア薬を含む経皮吸収型製剤を作製した。*P. berghei* 感染マウスの背部 4cm<sup>2</sup> を剃毛し、作製した薬剤を塗布した。経皮投与での既存抗マラリア薬の ED<sub>50</sub> 値及び ED<sub>90</sub> 値を求め、この値を用いて感染率 0.2% のマウスにこれら薬剤を 1 日 1 回 4 日間塗布して感染率の推移と完治有無を評価した。その結果、N-89 と既存の抗マラリア薬を併用することで抗マラリア活性は相乗的に作用し、また、低用量の抗マラリア薬を N-89 と併用することで、*P. berghei* 感染マウスは完治した。

今回の実験結果より、N-89 と既存抗マラリア薬は投与回数を減らしても併用薬として使用できる可能性が示唆された。今後、併用時の投与条件の最適化を行なう予定である。

協賛

日本寄生虫学会

第 77 回日本寄生虫学会日誌日本支部大会  
プログラム・抄録集

編集者：岩永史朗・森稔幸・迫口瑛史・中嶋舞  
発行者：大阪大学・微生物病研究所・分子原虫学分野  
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1  
TEL:06-6879-8364