

第 68 回日本寄生虫学会南日本支部大会
第 65 回日本衛生動物学会南日本支部大会
合同大会（2015）

プログラム・講演要旨



会 期：2015年10月17日(土)－10月18日(日)
会 場：長崎大学 医学部 坂本キャンパス ポンペ会館
大 会 長：濱野真二郎(長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学分野)
大会事務局：長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学分野内
〒852-8523 長崎市坂本 1-12-4
TEL：095-819-7825
FAX：095-819-7824
e-mail：kawabataya@nagasaki-u.ac.jp

ご案内

1. 受付：2015年10月17日(土) 12時00分より ポンペ会館 1Fロビー
9時00分からのシンポジウムにご参加の方は、シンポジウム終了後に受付をして下さい。
2. 会費：当日受付にてお支払いください。
参加費：一般 2,000 円、学生無料
懇親会費：一般 3,000 円、学生 2,000 円
3. 発表：口頭発表のみ。発表 10 分、質疑応答 5 分を予定しています。
4. 発表データ：**当日、会場にて受付**いたします。Windows 版 Microsoft PowerPoint で作成してください。Mac 版には対応しておりません。各自、必ず事前の動作確認をお願いします。
当日使用のコンピュータは、OS が Windows7、ソフトは Microsoft PowerPoint 2013 です。
5. 評議員会・運営委員会：2015年10月17日(土) 12時00分～13時00分
長崎大学医学部坂本キャンパス ポンペ会館 1階 セミナー室
6. 懇親会：2015年10月17日(土) 19時00分より ポンペ会館
7. その他
 - ・クロークは用意致しませんので、お荷物は各人で管理をお願い致します。また、医学部内は全面禁煙です。ご協力をお願い致します。
 - ・休憩室は、ポンペ会館1階談話室を利用できます。
8. 会場へのアクセス
次ページ図参照。



長崎空港から

- 出島道路経由（5番のりば）と浦上経由・住吉・道の尾経由（4番のりば）、2通りの運行ルートがあります。（所要時間約1時間、運賃片道900円）
- 浦上経由・住吉・道の尾経由のバスに乗り、松山町で降車、徒歩15分。
- 出島道路経由のバスに乗り、長崎駅前または茂里町（浦上駅近く、上図参照）で降車。長崎駅前からは下記参照。茂里町から徒歩30分、もしくは市内電車（赤迫方面1, 3番）に乗り、浜口町降車、徒歩10分。
- 県営バス 時刻表 PDF https://www.keneibus.jp/limousine/nagasaki_20151001.pdf
- 長崎バス ホームページ <http://www.nagasaki-bus.co.jp/bus/kukou/index.html>

長崎駅前から

- 長崎バス8番（医大経由または江平経由 下大橋行）に乗り、医学部前降車、徒歩5分。
- 市内電車（赤迫方面1, 3番）に乗り、浜口町降車、徒歩10分。
- タクシーで約10分。

浦上駅前から

- 徒歩20分。
- タクシーで約5分。

松山町バス停から

- 徒歩15分。

**第68回日本寄生虫学会南日本支部大会・第65回日本衛生動物学会南日本支部大会
合同大会**

日程

	第1日目 10月17日(土)	第2日目 10月18日(日)
9:00	9:00 - 11:30 フィラリア症シンポジウム	9:15 - 10:30 セッション5 (寄生虫 13, 14, 15, 16, 17)
10:00		10:30 - 10:40 休憩
11:00		10:40 - 11:40 セッション6 (衛生動物 5, 6, 7, 8)
		11:45 - 12:15 総会
12:00	12:00 - 13:00 評議委員会・運営委員会	12:15 - 12:20 閉会挨拶
13:00	13:00 - 13:05 開会挨拶 13:05 - 13:55 特別講演 (Dr. Patricia Graves) 13:55 - 14:00 休憩	
14:00	14:00 - 15:00 セッション1 (衛生動物 1, 2, 3, 4)	
15:00	15:00 - 15:10 休憩 15:10 - 16:10 セッション2 (寄生虫 1, 2, 3, 4)	
16:00	16:10 - 16:20 休憩 16:20 - 17:20 セッション3 (寄生虫 5, 6, 7, 8)	
17:00	17:20 - 17:30 休憩 17:30 - 18:30 セッション4 (寄生虫 9, 10, 11, 12)	
18:00		
19:00	19:00 - 21:00 懇親会	

10月17日(土)

■ サテライトシンポジウム (9:00~11:30)

“世界のフィラリア対策と日本の貢献”

Insight into the present state of GPELE and Japan's contribution

1. はじめに 一盛和世
2. フィラリア症研究と防圧における日本の貢献 多田 功
Japan's contribution to the research and control of lymphatic filariasis
3. 世界の動き -- リンパ系フィラリア症対策の今
 - WHO 矢島 綾、一盛和世
“世界リンパ系フィラリア症制圧プログラム－枠組みとプログレス”
 - Pac-ELF Patricia Graves
Lymphatic Filariasis Elimination end-game in the Pacific
 - JICA 上田直子
“世界フィラリア対策に対する JICA の貢献”
 - DNDi 平林史子
“フィラリア症対策を補強する DNDi の医薬品開発”
New treatment for reinforcement of the filarial diseases control by DNDi
 - アカデミア 伊藤 誠
“住民にやさしいフィラリア症対策”
Benign strategies for lymphatic filariasis control
4. まとめ

■ 評議委員会・運営委員会 (12:00~13:00)

■ 特別講演 (13:05~13:55)

Vector-Borne Disease Control and Elimination in the Pacific

Dr. Patricia Graves (James Cook University)

■ 一般講演

【セッション1】(14:00~15:00) 座長: 皆川 昇 (長崎大学・熱研・病害動物)

衛生動物1

メトフルトリン製剤を用いたマラウイ共和国におけるマラリアコントロールに関する小規模試験(1)メトフルトリンの揮散率と家屋の構造に関する考察

○川田 均¹、中澤秀介¹、島袋 梢²、大橋和典³、Dylo Foster Pemba⁴

¹長崎大学熱帯医学研究所、²長野県看護大学、³住友化学健康・農業関連事業研究所、⁴ Department of Biology, Chancellor College, University of Malawi

衛生動物2

大学構内における蚊対策の試み

○砂原俊彦¹

¹長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野

衛生動物3

ボウフラの対捕食者行動の種間比較

○大庭伸也¹

¹長崎大学教育学部生物学教室

衛生動物4

ヤツシロハマダラカの分類学的再検討の必要性について

今西 望、○比嘉由紀子、砂原俊彦、皆川 昇

長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野

【セッション2】(15:10~16:10) 座長：水上修作(長崎大学・熱研・免疫遺伝)

寄生虫1

西ケニアビタ地域における住血吸虫症とマラリアの空間分布とリスク要因の解明

○ 風 幸世、Evans Chadeka、Benard Ngetich、濱野真二郎

長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学分野

寄生虫2

***Schistosoma haematobium* and hookworm infections among schoolchildren in Kwale, rural coastal Kenya and associated factors**

○ Evans A. Chadeka^{1,2}, Nagi Sachiyo¹, Toshihiko Sunahara³, Shinjiro Hamano¹

¹Department of Parasitology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, ³Department of Eco-epidemiology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

寄生虫3

Tandem repeat recombinant proteins as potential antigens for the sero-diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection

○ Yombo Dan Justin Kalenda^{1,2}, Kentaro Kato¹, Yasuyuki Goto³, Yoshito Fujii⁴ and Shinjiro Hamano^{1,5}

¹Department of Parasitology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Japan, ²Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Japan, ³Laboratory of Molecular Immunology, Department of Animal Resource Sciences, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Japan, ⁴Department of Eco-epidemiology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Japan, ⁵Nagasaki University Nairobi Research Station, NUITM-KEMRI Project, Nairobi, Kenya

寄生虫4

カラアザール治療後皮膚リーシュマニア症の治療過程における皮膚症状と皮内原虫量の定量分析

○ 延末謙一¹、菊池三穂子²、Dinesh Mondal³、濱野真二郎¹

長崎大学熱帯医学研究所¹寄生虫学分野、²免疫遺伝学分野、³バングラデシュ国際下痢症研究センター(ICDDR, B)

【セッション3】(16:20~17:20) 座長：菊池三穂子(長崎大学・熱研・免疫遺伝)

寄生虫 5

乾燥 LAMP 法によるリーシュマニア原虫の迅速簡便検出法の開発の試み

○黒川昌悟¹、林田京子²、相馬颯介¹、神山長慶¹、飛弾野真也¹、濱野真二郎³、小林隆志¹

大分大・医・¹感染予防医学講座、²動物実験部門、³長崎大・熱研・寄生虫学

寄生虫 6

大分県久住高原の通年放牧牛における *Theileria orientalis* ジェノタイプの年間変動

○正谷達膳¹、吉原俊平¹、松原敦子²、後藤貴文²、高橋秀之²、田仲哲也¹、安藤匡子¹、遠藤泰之¹、松尾智英¹

¹鹿児島大学共同獣医学部、²九州大学大学院農学研究院高原農業実験実習場

寄生虫 7

Design of species-specific primers for *Eimeria vermiformis* and *Eimeria pragensis*

○Yijuan Ma, Yoichiro Horii, Nariaki Nonaka

Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki

寄生虫 8

大分県の野外で採集したキアシツメトゲブユ成虫に見いだされたオンコセルカ幼虫の分子同定

○福田昌子¹、大塚 靖²、高岡宏行³

¹大分大学全学研究推進機構、²鹿児島大学国際島嶼教育研究センター、³マラヤ大学理学部生物学研究所

【セッション4】(17:30~16:30)

座長：吉田裕樹（佐賀大学・医学部・分子生命科学講座・生体機能制御）

寄生虫 9

Induction of IL-27-producing CD4⁺ T cells and PD-1/LAG-3 signaling during malaria infection

○Henrietta Terko Doe¹, Daisuke Kimura¹, Mana Miyakoda¹, Kazumi Kimura¹, Masoud Akbari¹ & Katsuyuki Yui¹

¹Division of Immunology, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University

寄生虫 10

Antigen-specific CD8⁺ T cell responses against blood-stage of malaria infection in the spleen

○Ganchimeg Bayarsaikhan¹, Mana Miyakoda¹, Kazuo Yamamoto², Daisuke Kimura¹, Masoud Akbari¹, Kazumi Kimura¹ and Katsuyuki Yui¹

¹Division of Immunology, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Graduate school of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki Japan, ²Division of Cell Function Research Support, Biomedical Research Support Center, Nagasaki University School of Medicine

寄生虫 11

マンソン住血吸虫の先行感染がマラリアの病態に及ぼす影響

○森保妙子^{1,3}、中村梨沙¹、井上愛美⁴、Hussein Abkhallo²、Richard Culleton²、濱野真二郎¹

¹長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学分野、²長崎大学熱帯医学研究所病理学分野マラリア室、³長崎大学医歯薬学総合研究科、⁴北里生命科学研究所

寄生虫 12

寄生蠕虫は宿主の IL-4, IL-10, IL-13 シグナルが「同時に」欠損しても抗糖尿病効果を示す

○長田良雄、金澤 保

産業医科大学医学部免疫学・寄生虫学

10月18日(日)

■ 一般講演

【セッション5】(9:15~10:30)

座長：田仲哲也(鹿児島大学共同獣医学部獣医学科病態予防獣医学講座感染症学)

寄生虫13

赤痢アメーバ“マイトソーム”の生理的意義の解明～コレステロール硫酸産生とシスト形成の制御～

○見市文香¹、宮本智文²、高尾省子¹、Ghulam Jeelani³、橋本哲男⁴、原博満¹、野崎智義^{3,4}、吉田裕樹¹

¹佐賀大・医学部・免疫学、²九州大学大学院薬学研究院、³感染症研究所、⁴筑波大学大学院生命環境科学研究科

寄生虫14

Parasitemia level difference in gender and MICA-TM polymorphism detected by quantitative real time PCR in chronic Chagas patients from Bolivia

○Clara Vasquez Velasquez¹, Florencia del Puerto², Mihoko Kikuchi¹, Graciela Russomando², Jimmy Robeiro³, Ana Maria Montaña Arias³, Roxana Loayza Mafayle³, Cinthia Avilas Yelin Roca³, Javier Lora³, Juan Eiki Nishizawa⁴, Freddy Udalrico Gutierrez Velarde⁵, Kenji Hirayama¹
¹Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), and Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan, ²Instituto de Investigaciones de Ciencias en Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay, ³Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, Santa Cruz, Bolivia, ⁴Clinica Siraní, Santa Cruz, Bolivia, ⁵Hospital Universitario Japonés, Santa Cruz, Bolivia

寄生虫15

実験感染鶏におけるイヌ回虫、ネコ回虫、ブタ回虫体内移行幼虫の分布

○後田眞樹¹、吉田彩子¹、早田弥生²、Yen TH Nguyen²、王珍珍¹、堀井洋一郎^{2,3}、丸山治彦^{1,3}、三澤尚明³、野中成晃^{2,3}

¹宮崎大・医・寄生虫学、²宮崎大・農・獣医寄生虫病学、³宮崎大・産業動物防疫リサーチセンター

寄生虫 16

競合 ELISA 法を用いた肉用牛におけるトキソカラ属回虫、豚回虫の抗体保有状況調査

○田中 舜¹、吉田彩子²、堀井洋一郎^{1,3}、三澤尚明³、丸山治彦^{2,3}、野中成晃^{1,3}

¹宮崎大・農・獣医・獣医寄生虫病学、²宮崎大・医・寄生虫学、³宮崎大・産業動物防疫リサーチセンター

寄生虫 17

九州産サバの水揚げ地別のアニサキス寄生率・筋肉移行率および寄生アニサキス種の解析

○白神浩平¹、飛弾野真也¹、中村匠子¹、野口香緒里¹、水上一弘²、村上和成²、八尋隆明³、西園晃³、神山長慶¹、林田京子⁴、小林隆志^{1,4}

大分大・医・¹感染予防医学、²消化器内科学、³微生物学、⁴動物実験部門

【セッション6】(10:40~11:40) 座長：砂原俊彦(長崎大学・熱研・病害動物)

衛生動物 5

房総半島におけるシカの密度とマダニの密度との関係

○角田 隆¹、落合啓二²、浅田正彦²

¹長崎大学熱帯医学研究所ベトナム拠点、²千葉県立中央博物館、³千葉県生活環境部生物多様性センター

衛生動物 6

Identification and Expression of two Glutathione S-Transferases from the hard tick *Haemaphysalis longicornis*

○Emmanuel Pacia Hernandez¹, Kodai Kusakisako^{1, 2}, Hiroki Maeda^{1, 2}, Remil Linggaton Galay^{1, 3}, Masami Mochizuki^{1, 2}, Kozo Fujizaki⁴, Tetsuya Tanaka^{1, 2}

¹Laboratory of Infectious Diseases, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University,

²Department of Pathological and Preventive Veterinary Science, Yamaguchi University,

³Department of Veterinary Paraclinical Sciences, University of the Philippines at Los Baños,

⁴Zen-noh Institute of Animal Health

衛生動物 7

***Aedes (Stegomyia) scutellaris* グループ蚊のチクングニアウイルスに対する感受性・媒介能の比較**

○相馬颯介^{1, 2}、林田京子²、飛弾野真也¹、神山長慶¹、黒川昌悟^{1, 2}、野口香緒里¹、福田昌子³、Narumon Komalamisra⁴、牛島廣治⁵、倉根一郎⁶、高崎智彦⁶、小林隆志^{1, 2}、江下優樹^{1, 4}

大分大・¹医・感染予防医学講座、²動物実験部門、³全学研究推進機構、⁴マヒドン大学熱帯医学部、⁵日大・医・微生物学教室、⁶国立感染症研究所ウイルス一部

衛生動物 8

チクングニアウイルスの迅速診断のための乾燥 RT-LAMP 法の開発

○林田京子¹、山岸純也²、杉本千尋²、若栗浩幸³、Lucky Ronald Runtuwene³、小林隆志¹、鈴木 稯³、江下優樹¹

¹大分大・医、²北大・人獣センター、³東大・新領域

■ 総会 (11:45~12:15)

サテライトシンポジウム

「フィラリア症研究と防圧における日本の貢献」

Japan's contribution to the research and control of lymphatic filariasis

九州大学名誉教授

多田 功

リンパ系フィラリア症 (LF) を発症するフィラリアのうち *Wuchereria bancrofti* (バンクロフト糸状虫) は亜熱帯から熱帯に分布し、20 世紀末には感染者数 1.2 億人と推定されていた。日本での感染は平安朝時代にも見られるように古いが、その治療や防圧が可能となったのは第二次世界大戦後のことである。

感染は蚊によって媒介され、リンパ管に寄生するに至った成虫が仔虫 (microfilaria) を産出する。典型的病像は熱発作、リンパ管炎、上下肢の象皮病、陰嚢水腫、乳糜尿などである。

日本では南西諸島 (沖縄、奄美) と九州南西部に濃厚な流行が見られ、東京大学伝染病研究所、長崎大学風土病研究所、鹿児島大学医学部が主になって研究が進められた。ジエチルカルバマジン (DEC) の出現により本症治療が可能となってから、その投与方法、副作用制御、診断法標準化が集中的に研究された。1962 年から国家規模で選択的 DEC 投与が流行地で実施され、約 10 年間で全流行地の防圧は成功した。

日本で LF 防圧を成功させた要因は地勢的、気象的な特質の他、社会的特質 (地域住民の熱意、キャンペーン活動、研究者の参画など) が重要で、それらは後の世界レベルでの防圧にも影響を与えた。

その後、当時世界的な問題となっていた失明フィラリア症というべきオンコセルカ症研究が、1970 年代半ばから日本人研究者のターゲットとなった。

サテライトシンポジウム

「世界リンパ系フィラリア症制圧プログラム－枠組みとプログレス」

Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis –framework and progress

WHO 西太平洋地域事務所

矢島 綾

元 WHO、長崎大学客員教授

一盛 和世

世界リンパ系フィラリア症制圧プログラム（GPELF）は、1997年に世界保健総会が加盟国に対してリンパ系フィラリア症の制圧に向けた最善の努力を求める決議を採択したことを受け、世界保健機関（WHO）によって2000年に設立されたグローバルプログラムである。GPELFはリンパ系フィラリア症を2020年までに世界から制圧することを目標としており、この目標達成のためにマルチステークホルダー・パートナーシップで産官民学が連携し、各蔓延国が国家フィラリア症制圧プログラムを段階的に進めていくための支援を提供している。WHOは蔓延国がプログラムを進めるにあたっての指針・技術支援を提供すると同時に、ドナー・パートナーと調整し、蔓延国へ適切な支援が適切なタイミングで届けられるよう図っている。本発表では、GPELFの設立された背景と枠組み、WHOおよびドナー・パートナーの役割分担、そして最後に西太平洋地域各国のプログレスを簡単に紹介する。

Satellite symposium

Lymphatic Filariasis Elimination end-game in the Pacific

PacELF

Prof. Patricia Graves

This presentation will describe the stages in the lifecycle of the Pacific Program for Elimination of Lymphatic Filariasis (PacELF). It started with initiation in 1999 under the leadership of Dr Kazuyo Ichimori. Then came its growth and maturation within the Global Program for Elimination of Lymphatic Filariasis from 2000 to 2015. Now the current status is the 'end-game' of LF elimination in the Pacific region as activities wind down. The varying successes and challenges of the PacELF program in the countries and territories of the Pacific will be described, taking into account their different initial prevalences and vectors of LF as well as distinct peoples, history, socioeconomic status, and degree of isolation. Current efforts and progress towards documenting the massive efforts by countries, WHO and partners that went into the PacELF program will be described to highlight the example of this diverse public health intervention program and its future direction.

サテライトシンポジウム

「フィラリア症対策を補強する DNDi の医薬品開発」

New treatment for reinforcement of the filarial diseases control by DNDi

特定非営利活動法人 DNDi Japan

平林 史子、森岡 翠

フィラリア蠕虫の寄生を原因とする疾患の中でも、*Onchocerca volvulus* によるオンコセルカ症や *Wuchereria bancrofti*、*Brugia malayi*、*B. timori* によるリンパ系フィラリア症は WHO により顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases: NTDs) として指定され、制圧／制御に向けた世界規模の対策が展開されている。オンコセルカ症や一部のリンパ系フィラリア症の対策では、北里研究所の大村智博士 (現北里大学特別荣誉教授) が発見した放線菌が産生するエバーメクチンより開発されたイベルメクチン (Ivermectin) が無償で提供され、途上国の貧困層を中心とする数億人の人びとの健康向上に寄与している。

DNDi (Drugs for Neglected Diseases *initiative*) は産官学の連携により、NTDs などに対する新薬の開発、アクセス向上、途上国の研究開発能力の強化を通じて顧みられない患者の健康と生活の質の向上を目指す非営利の研究開発機関である。

イベルメクチンは仔虫 (microfilaria) に作用する安全な薬であるが、オンコセルカとロア糸状虫の重複感染患者の治療には重篤な副作用が生じることが懸念されている。DNDi はオンコセルカ症を最初のターゲットとし、この問題を解決することで WHO が主導する各国の制圧対策を補強することを目指している。イベルメクチンにはない成虫の殺傷効果を有する安全で効果の高い医薬品 (macrofilaricide) を開発することにより、オンコセルカとロア糸状虫の重複感染患者の治療を容易に行えるようにすることを目標としている。emodepside はアステラス製薬が創製し、Bayer HealthCare が動物用に開発した駆虫薬である。非臨床試験においてオンコセルカの成虫への殺虫作用が確認され、新たな抗成虫作用を持つ医薬品としての開発が期待されており、間もなくフェーズ I 臨床試験が開始される予定である。

サテライトシンポジウム

「住民にやさしいフィラリア症対策」

Benign strategies for lymphatic filariasis control

愛知医科大学教授

伊藤 誠

2020年までに、世界中のリンパ系フィラリア症を制圧しようとの壮大なプロジェクトが進行中である。年1回の集団投薬（MDA）を5年間続けるのがその対策の柱であり、すでに多くの地域、国で成果をあげつつある。

対策の進行に伴ってフィラリアの感染数は減少し、これまで使用されてきた血中のミクロフィラリアの検出法はもちろんのこと、抗原検出キットでも検出感度が十分ではなく、より感度の高い方法が求められている。また、制圧のために大切なことの一つは住民の積極的な参加であり、そのためには住民に対する負担の少ない方法を考慮する必要がある。

我々はこれまでにフィラリアの感染状況を把握する二つの方法を開発した。一つは、これまでの検査検体としての血液にかわる、侵襲性の少ない尿を検体として用い、その中にフィラリアに対する抗体を検出する方法、もう一つは住民からの検体ではなく、住民の血液を吸った蚊を用いてその中にフィラリアのDNAをLAMP法で検出する方法である。

尿中にバンクロフト糸状虫のリコンビナント抗原（SXP1）に対するIgG4抗体を検出するELISA法は高い感度と特異性を持ち、その地域の流行状況の指標となる若年齢層の抗体を調べるのに適している。中国のフィラリア症対策が終了した地域での調査や、スリランカでのMDA前から終了までの継時的な調査から、小学生を対象とした尿を使った調査が対策の効果判定に有効であることが確認できた。GPSロガーを使うことで陽性者、陰性者を地図上に表示することができるようになり、より効率的な対策を可能にする。gravid trapで集めた媒介蚊からフィラリアのDNAを、LAMP法やPCR法で検出する方法は、これまでの実体顕微鏡下の検査よりはるかに効率がよく、高感度であった。これらの方法を組み合わせた「住民にやさしいフィラリア症対策」は、フィラリア症制圧対策に大きく貢献できると考えている。

Special Lecture

Vector Borne Disease Control and Elimination in the Pacific

Dr. Patricia Graves

James Cook University
WHO Collaborating Centre for Control Lymphatic Filariasis, Soil-transmitted
Helminths and Other Neglected Tropical Diseases,
Division of Tropical Health and Medicine,
Cairns and Townsville,
Queensland, Australia

This presentation will review the concepts of disease control, elimination and eradication as they relate to vector borne diseases that are endemic in the Pacific Region. The diseases to be considered include malaria and lymphatic filariasis as well as dengue and other arboviruses such as chikungunya. Recent information on infection and disease trends will be reviewed, based on availability of surveillance systems in various Pacific countries.

For disease control and elimination, public health strategies that are used include mass drug administration (preventive chemotherapy) for lymphatic filariasis in the Pacific region, while malaria control rests mainly on a combination of vector control with access to early diagnosis and treatment. The increasing threats of arbovirus infections are more challenging from the point of view of surveillance, diagnosis and treatment. Vector control is additional approach to disease control and elimination which could include interventions to reduce vector biting density or transmission ability, and/or to interrupt the intensity of contact between vectors and hosts. The evidence for effectiveness of vector control methods (including larval source management, insecticide spraying, insecticide treated mosquito nets and other novel methods) for these diseases will be reviewed. In this context, the feasibility and time-line of elimination of particular vector-borne diseases from the Pacific Region will be assessed.

衛生動物 1

メトフルトリン製剤を用いたマラウイ共和国におけるマラリアコントロールに関する小規模試験

(1) メトフルトリンの揮散率と家屋の構造に関する考察

○川田 均¹、中澤秀介¹、島袋 梢²、大橋和典³、Dylo Foster Pemba⁴

¹長崎大学熱帯医学研究所、²長野県看護大学、³住友化学健康・農業関連事業研究所、⁴Department of Biology, Chancellor College, University of Malawi

Small scale field trial on malaria control using Metofluthrin devices in Malawi. (1) A study on the relationship between the evaporation rate of Metofluthrin and house structure. Hitoshi Kawada, Shusuke Nakazawa, Kozue Shimabukuro, Kazunori Ohashi, Dylo Foster Pemba.

常温揮散性ピレスロイドであるメトフルトリンをプラスチック樹脂に練り込んだ空間忌避デバイスを用いたマラリア媒介蚊コントロール、およびこれに伴うマラリアコントロールに関する試験をマラウイ共和国で実施中である。2013年から2014年にかけて、チルワ湖の西部に位置するチリコ村の家屋40軒を選択し、①オリセット®プラス（ペルメトリン+PBO）のみ配布、②オリセット®プラス+メトフルトリンデバイス（2個/10㎡）、③オリセット®プラス+メトフルトリンデバイス（3個/10㎡）、④無処理（通常のベッドネット使用）の4区（各10軒）を設けた。同時に自記温度記録計を各家屋に設置し、室温を2時間間隔で計測した。

試験地の家屋は、土をこねて作ったレンガを積み重ねた壁にトタン屋根あるいは茅葺き屋根が載った構造で、多くの家屋は屋根と壁の間の隙間（eaves）を有するが、茅葺き屋根の家屋の室温はトタン屋根の家屋の室温に比べ有意に低いことが分かった。講演では、試験中（4ヶ月間）の各家屋の平均室温とメトフルトリンの揮散量に関して考察を行う。

衛生動物 2

大学構内における蚊対策の試み

○砂原俊彦¹

¹長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野

2014年に東京を中心に起こったデング熱の大流行を受けて、全国各地で媒介蚊であるヒトスジシマカの対策が急務となっているが、本種は東北地方以南の市街地や住宅地に極めて広く分布することから対策は容易ではない。対策における優先ターゲットを選定することが現実的であろう。2014年には東京の代々木公園が流行の中心となったことから、市街地に存在する大きな緑地は対策の優先ターゲットにふさわしいと考えられる。大学のキャンパスは多くの場合市街地に存在し、樹木も豊富で、潜在的にヒトスジシマカが好む環境となりやすい。またデング熱の流行地である熱帯地方へ行き来する人も一般に比べて高いと考えられるので、流行地で感染した人がウィルスを持ち込んで流行を起こす中心になる可能性も否定できない。

このような背景から、長崎大学医学部キャンパスにおけるヒトスジシマカの防除を目的とした、長崎大学モスキートコントロールユニットを新たに組織した。本ユニットは長崎大学教職員と学生のボランティアからなり、人件費を要さない。主な活動は、幼虫発生源対策と成虫の休息場所となる藪の対策である。キャンパス内で幼虫発生場所を発見したら、基本的に全幼虫を採集してカウントし、処理する。撤去が容易なものはそのまま撤去し、困難なものは大学の事務局と相談する。藪は、鎌を用いた草刈りによって処理する。

本年度に始まったばかりの試みであるが、これまでの準備、活動、成果について報告する。またこのような計画を進めるにあたって生じうる問題や、スケールアップへの展望についても論ずる。

衛生動物 3

ボウフラの対捕食者行動の種間比較

○大庭伸也¹

¹ 長崎大学教育学部生物学教室

蚊は竹の切り株から水田や溜池に到るまで、種によって様々な大きさの水域で繁殖する。そして、水中で多くの蚊の幼虫（ボウフラ）は、天敵（魚類や水生昆虫）に捕食され、成虫になる前に死亡する。そのため、ボウフラは自身の生存率を上げるため、天敵の匂いを感知すると防御反応（対捕食者行動）を示すことが知られている（Juliano and Reminger 1992; Juliano and Gravel 2002など）。このような対捕食者行動に関する知見は、天敵によるボウフラの個体数抑制を目指す際には欠かせない情報となる。また、それぞれの種が生息する環境の捕食圧の違いが、ボウフラの対捕食者行動にも影響すると期待される（Ohba et al. 2012）。演者は、このようなボウフラの対捕食者行動に関する研究は応用のみならず、行動生態学のような基礎生物学の研究材料としても今後注目されると期待している。本講演では、異なる水域で繁殖する3種のボウフラを対象に、天敵（メダカ）の匂いに対する影響を調べた行動観察について報告したい。水田や湿地で繁殖し天敵に遭遇しやすいコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus*、水たまりやバケツなどで天敵にあまり遭遇しないアカイエカ *Cx. pipiens pipiens* 及び、竹の切り株などの天敵がほとんど棲まない小水域で繁殖するヒトスジシマカ *Aedes albopictus* の3種のボウフラの観察を行った。メダカ水（メダカを24時間飼育した汲み置き水道水）と対照区（汲み置き水道水）で行動観察を行ったところ、コガタアカイエカ、アカイエカ、ヒトスジシマカの順に行動が活発であったが、イエカ類は対照区に比べメダカ水の中で活動量を減少させることが分かった。以上から、天敵が多い水域で繁殖する種ほど活動量が小さいことと、メダカの匂いを感知すると行動を抑制しメダカに見つからないようにすることが分かった。またこのような行動観察は大学生でも実施することができるため、今後、『身近な生物教材』にもなることが期待される。

衛生動物 4

ヤツシロハマダラカ分類学的再検討の必要性について

今西 望、○比嘉由紀子、砂原俊彦、皆川昇

長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野

現在、日本からハマダラカは 2 亜属 13 種が記録されている。ハマダラカはマラリアを媒介する種を多数含むことから分類学的研究が盛んに行われ、日本においては 1980 年代でその研究が一段落したといえる。ところが、近年になって近隣国からのハマダラカの新種発表や分類学的再検討が相次ぎ、それに関連して日本からも新発見が出てきている。1980 年代以降に報告された日本におけるハマダラカの主な分類学的新知見は、①1951 年に熊本県八代市から新種記載されたヤツシロハマダラカ (*Anopheles yatsushiroensis*) が韓国に分布する *Anopheles pullus* のシノニム (異名同種) であること、②2005 年に韓国から新種として記載された *Anopheles belenrae* が北海道にも分布していること、③北海道に分布するオオツルハマダラカ (*Anopheles lesteri*) と北海道以南に分布する集団は形態的に異なり、亜種として扱うのが妥当であること、④琉球列島に生息するコガタハマダラカは、ほかの国の集団と異なり新種であること、の 4 点があげられる。日本産ハマダラカ研究は新たな段階に入ったといえるだろう。以上をふまえ、当研究室では日本産ハマダラカ分類学的な再検討 (及び最終的には新しい検索表の作成を目指す) を行う目的で 2013 年から日本各地でハマダラカを採集し、外部形態に加えてミトコンドリア DNA バーコーディング領域をターゲットとした遺伝子レベルでの比較検討を行っている。その一連の研究の中で、①に関して、日本産ヤツシロハマダラカが独立種である可能性が否定できないことが示唆されたため、本研究では過去の文献を引用しながら、ヤツシロハマダラカ分類学的再検討の必要性について論じる。

寄生虫 1

西ケニアビタ地域における住血吸虫症とマラリアの空間分布とリスク要因の解明

○ 風 幸世、Evans Chadeka、Benard Ngetich、濱野真二郎

長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学分野

背景

住血吸虫症とマラリアはサブサハラに蔓延しており、しばしば重複感染が認められる。これらの感染は中間宿主やベクターの分布と不可分の関係にあり、地域集積性を示す。感染伝搬の現状把握、それに続くコントロールのためには疾患の空間分布とリスク要因の解明が重要である。

目的

西ケニアビタ地域における住血吸虫症とマラリアの空間分布とリスク要因の解明。

方法

2014年9月、ヴィクトリア湖湖畔にあるビタ地域の全幼稚園76校のうち、特殊学校と他プログラムへの参加校を除いた全66校から無作為に抽出した幼稚園児1,244人(2~5歳)を対象に、寄生虫感染率を含めた基礎的な調査を実施した。身長・体重、体温測定、ヘモグロビン値、簡易テストキットと薄層スミアによるマラリア感染を調査し、ろ紙採血を行った。さらに2日間連続の便回収を行い、Kato-Katz法によるマンソン住血吸虫と土壌媒介蠕虫の検査を行った。

結果・考察

マンソン住血吸虫の感染率は46.0% (554/1205人)であり、ビタ地域の低年齢層においても本症が高度に浸淫している実態が判明した。また、簡易診断キットを用いた熱帯熱マラリア原虫の感染率は39.5% (492/1244人)であり、マンソン住血吸虫と重複感染している幼稚園児は17.9% (185/1033人)であった。また、土壌媒介蠕虫の虫卵陽性率は、回虫2.5% (30/1205人)、鉤虫1.2% (14/1205人)、鞭虫1.5% (18/1205人)であった。マンソン住血吸虫の感染リスクは地域間で有意な差が認められ、その感染率は市街地に近いほど高く、遠いほど低いことが判明した。反対にマラリアの感染率は郊外で高い傾向を示した。今後は疾病の空間集積ならびに感染リスク要因の解明を行う。

寄生虫 2

Schistosoma haematobium and hookworm infections among schoolchildren in Kwale, rural coastal Kenya and associated factors

○Evans A. Chadeka^{1,2}, Nagi Sachiyo¹, Toshihiko Sunahara³, Shinjiro Hamano¹

¹Department of Parasitology, ³Department of Eco-epidemiology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), ²Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan

Helminthic infections remain a public health concern in resource limited settings. Many control programs advocate regular deworming of school children to reduce development of severe morbidity. To elucidate factors associated with the intensity of these infections, a cross-sectional study was conducted among 368 schoolchildren. Urine filtration and Kato Katz technique were employed to assess *S. haematobium* and intestinal helminthic infections respectively. An interviewer administered questionnaire was used to gather demographic, socioeconomic and health practice data from parents and children.

The overall prevalence of at least one helminthic infection was 48.9% (95% CI; 43.7-54.1), with a range of 18.9% to 81.7% in the six schools. The geometrical mean egg count for *S. haematobium* was 2.0 eggs / 10ml urine, ranging from 0.4 to 8.0, while hookworm mean was 2.2 eggs per gram (epg) with a range of 0 to 16.5 epg in the schools. Religion showed an association with *S. haematobium* infection, with OR=18.18 (95% CI; 4.20-71.83) and so did school location, with OR=18.99 (95% CI; 3.67-103.95). The intensity of hookworm infection was significantly associated with school location OR=304.13 (95% CI; 71.79-1352.77).

In conclusion, prevalence of helminth infections was high and a heterogeneous distribution of *S. haematobium* and hookworm infections was observed among the study schools.

寄生虫 3

Tandem repeat recombinant proteins as potential antigens for the sero-diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection

○Yombo Dan Justin Kalenda^{1,2}, Kentaro Kato¹, Yasuyuki Goto³, Yoshito Fujii⁴ and Shinjiro Hamano^{1,5}

¹Department of Parasitology, ⁴Department of Eco-epidemiology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), ²Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan

³Laboratory of Molecular Immunology, Department of Animal Resource Sciences, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

⁵Nagasaki University Nairobi Research Station, NUITM-KEMRI Project, Nairobi, Kenya

The diagnosis of schistosome infection, followed by effective treatment and/or mass drug administration, is crucial to reduce the disease burden. Suitable diagnostic tests and field-applicable tools are required to sustain schistosomiasis control programs. We therefore assessed the potential of tandem repeat (TR) proteins for sero-diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection using an experimental mouse model.

TR genes in the genome of *S. mansoni* were searched *in silico* and 7 candidates, named SmTR1, 3, 8, 9, 10, 11 and 15, were selected. Total RNA was extracted from *S. mansoni* adult worms and eggs. Target TR genes were amplified, cloned, and the proteins were expressed in *Escherichia coli* competent cells. Female BALB/c mice were infected with 100 *S. mansoni* cercariae and sera were collected each week post-infection for 18 weeks. The levels of IgG antibodies to SmTR antigens were compared to those to soluble egg antigen (SEA) and to soluble worm antigen preparation (SWAP). Sera of infected mice reacted to all the antigens whereas those of naïve mice did not. IgG responses to SmTR1, 3, 9 and 10 were detected at the early stage of infection. Interestingly, antibodies reacting to SmTR3, 9, 10 and 15 dramatically decreased 4 weeks after treatment with praziquantel, while those against SEA and SWAP remained elevated.

Our study suggests that TR proteins, especially SmTR10, may be suitable antigens for sero-diagnosis of infection by *S. mansoni* and are potential markers for monitoring and surveillance of schistosomiasis, including re-infection after treatment with praziquantel.

寄生虫 4

カラアザール治療後皮膚リーシュマニア症の治療過程における皮膚症状と皮内原虫量の定量分析
○延末謙一¹、菊池三穂子²、Dinesh Mondal³、濱野真二郎¹

長崎大学熱帯医学研究所¹ 寄生虫学分野、²免疫遺伝学分野、³バングラデシュ国際下痢症研究センター(ICDDR, B)

リーシュマニア症はサシチョウバエによって媒介され、細胞内寄生原虫 *Leishmania donovani* や *Leishmania chagasi* を病原微生物とする。全世界で毎年百数十万人が罹患し、2 万～4 万人が死亡している。カラアザール治療後皮膚リーシュマニア症 (PKDL: post kala-azar dermal leishmaniasis) は、南アジアと東アフリカにおいて主として *L. donovani* による内臓リーシュマニア症(VL: visceral leishmaniasis or kala-azar)の治療後に発症する皮膚疾患である。PKDL 患者は保虫宿主と考えられ、リーシュマニア症根絶のためには効果的な PKDL 対策が不可欠である。PKDL の標準的診断法は皮膚切開塗抹標本による虫体の証明であるが、感度が低いため、今日では PCR による *Leishmania* DNA の検出が頻用される。PKDL の標準的治療は 12 週間にわたるミルテフォシン 100mg/日の内服で、その治癒率は 78%である。皮膚症状の臨床的経過と患者皮内原虫数の相関は十分には理解されていない。そこでわれわれはバングラデシュの PKDL 患者において、治療前、ミルテフォシン投与終了直後、および投与終了 12 ヶ月後に、皮疹の広がり測定し、皮膚パンチ検体中の *Leishmania* DNA の定量的 PCR 解析を行った。Mymensingh 県 Muktagacha 郡保健センターで 2000～2011 年に加療された VL 患者 1,467 人の追跡調査により、40 人の PKDL 患者を見出し、研究協力の同意を得た。皮疹の広がり、治療前から投薬終了直後、および投薬終了直後から投与終了 12 ヶ月後にかけて有意に減少した。皮疹の完全消失は、投薬終了直後で 3 人、12 ヶ月後で 31 人に認められた。皮膚検体中 *Leishmania* DNA 量も同様に有意な減少を示した。ただし治療前の PCR 陰性検体が 15 人あり、治療直後で 33 人、12 ヶ月後で 37 人が PCR 陰性となった。おおむね PCR 陰転化が先に生じ、その後皮疹が消失する経過を示した。そのタイムラグは、傷害されたメラノサイトの回復や皮膚のターンオーバーに時間がかかるためと推定される。12 ヶ月後に皮疹が残存していた 7 人もすべて PCR は陰性であり、さらに遅れて皮疹が消失する可能性はある。一方、1 人の患者は 12 ヶ月後に皮疹は消失していたが PCR 陽性で、このような症例はリーシュマニア症根絶計画の障害になると懸念される。このように個別に見ると皮疹の広がり DNA 量の変化に齟齬を来す症例も見出された。

寄生虫 5

乾燥 LAMP 法によるリーシュマニア原虫の迅速簡便検出法の開発の試み

○黒川昌悟¹、林田京子²、相馬颯介¹、神山長慶¹、飛弾野真也¹、濱野真二郎³、小林隆志¹

大分大・医・¹感染予防医学講座、²動物実験部門、³長崎大・熱研・寄生虫学

リーシュマニア症は熱帯や亜熱帯の 88 か国以上で流行しており、毎年 130 万人が新たに感染し 2~3 万人が死亡している原虫感染症であり、WHO の定義する顧みられない熱帯病 (NTD) の 1 つとされている。リーシュマニア症はその症状により大きく内臓・皮膚・粘膜皮膚リーシュマニア症に分類されるが、特に内臓リーシュマニア症 (別名:カラ・アザール) は発熱、肝脾腫および貧血といった症状を示し、放置すれば死に至る重篤な疾病である。内臓リーシュマニア症診断のゴールドスタンダードは感染臓器 (骨髄液や肝臓など) における顕微鏡検査で原虫を証明することだが、その侵襲的な診断方法は現地では必ずしも現実的ではなく、また検出感度も十分なものではない。また内臓リーシュマニア症は時に、治癒後にポストカラアザール皮膚リーシュマニア症 (PKDL) と呼ばれる皮膚病変を形成し、本原虫のリザーバーとなり得ることが懸念されている。従って、簡便かつ精度の高い内臓リーシュマニア症の血液や皮膚病変からの診断法の確立が求められている。

LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法とは鎖置換反応を利用して等温条件で遺伝子を増幅させる方法であり、その感度の高さと簡便さから、発展途上国における各種感染症診断方法として注目されている方法である。しかし酵素の持ち運びにコールドチェーンを必要とすることや複雑な手順など、その実用化には克服すべき問題点が存在している。当研究室ではプライマーや酵素を含む全試薬の乾燥化と試薬の改良により、現地で使用可能な各種熱帯感染症に対する簡易診断キットの作製に取り組んでいる。これまでに開発した他の感染症に対する乾燥 LAMP 法では、長期間室温保存が可能でありフィールドへの運搬が簡便であることが実証されている。今回、内臓リーシュマニア症の血液検体及び皮膚病変からの LAMP 法を用いた簡易診断法の確立を目指し、流行地域での実用化へ向けた基礎検討を行ったので報告する。

寄生虫 6

大分県久住高原の通年放牧牛における *Theileria orientalis* ジェノタイプの年間変動

○正谷達膳¹、吉原俊平¹、松原敦子²、後藤貴文²、高橋秀之²、田仲哲也¹、安藤匡子¹、遠藤泰之¹、松尾智英¹

¹鹿児島大学共同獣医学部、²九州大学大学院農学研究院高原農業実験実習場

【背景と目的】

Theileria orientalis は牛を宿主とするマダニ媒介性原虫であり、放牧牛において重要な疾病の 1 つであるピロプラズマ病を引き起こす。本原虫は表面抗原である major piroplasm surface protein (MPSP)によって少なくとも 6 つのジェノタイプに分類される。一つの牧野に複数のジェノタイプが混在していることも珍しくなく、そのため一頭の個体に複数のジェノタイプの原虫が同時に感染することも考えられるが、詳細な疫学的情報は少ない。本研究では、通年放牧牛より一年間にわたって経時的に採取した血液中における同原虫のジェノタイプを、牛個体ごとにジェノタイピング PCR によって識別し、その年間変動を調べた。

【材料及び方法】2013 年 4 月から 2014 年 2 月にかけて、大分県久住高原で放牧されている 20 頭の黒毛和種牛より 2 ヶ月ごとに採血した。ギムザ染色による虫体の観察ならびに全 MPSP ジェノタイプを検出可能な MPSP-PCR による *T. orientalis* 遺伝子の検出を行った。20 頭のうち 5 頭の牛に関して、各 MPSP ジェノタイプ (Type1-5) を選別可能なプライマーを用いて、各月の末梢血中における原虫のジェノタイピング PCR を行った。また、2013 年 8 月に同牧野において採集されたフタトゲチマダニより DNA を抽出し、MPSP-PCR 及びジェノタイピング PCR を行った。

【結果及び考察】対象とした 20 頭の牛は全て、無症状であったにもかかわらず年間にわたって末梢血への *T. orientalis* の出現が MPSP-PCR により認められた。ギムザ染色による観察の結果、虫体数のピークは夏季 (8-10 月) であった。ジェノタイピング PCR により、本牧野の放牧牛には Type1-5 のいずれのタイプの原虫も存在し、一頭の牛に複数のタイプが多重感染していることが示された。興味深いことに、一頭より検出されるジェノタイプの種類は夏季に一過性に増加し、5 種類同時に検出される個体も複数みられた。8 月に同牧野において採集されたフタトゲチマダニを対象とした PCR より、本牧野のフタトゲチマダニ集団にはいずれのジェノタイプの原虫も存在することが示された。以上より、牛各個体における *T. orientalis* の感染率及びそのジェノタイプの種類は年間において変動しており、特にマダニの活発な時期である夏季にピークとなることが明らかとなった。

寄生虫 7

Design of species-specific primers for *Eimeria vermiformis* and *Eimeria pragensis*

○Yijuan Ma, Yoichiro Horii, Nariaki Nonaka

Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki

Coccidiosis is a worldwide disease in domestic, companion and laboratory animals, causing diarrhea, weight loss, desiccation, and death. Infection with multiple coccidian species is commonly observed in an affected animal, however, the effects of interaction among coccidian species and even with other pathogens on the pathophysiology have not been completely cleared.

We have been maintaining two murine coccidia, *Eimeria vermiformis* (Ev) and *Eimeria pragensis* (Ep) in our laboratory. The former parasitizes at the lower 2/3 of small intestine of mice, and the latter at the caecum and colon of mice. Those species can be used for evaluating the effect of species-interaction on the pathophysiology, however, on the other hand, a secure system for evaluating species purity is required for the laboratory maintenance because the morphology of oocysts of the two species is very similar.

In order to develop a tool for evaluating the contamination of one species with another, we tried to develop species-specific primers for Ev and Ep. DNA was extracted from Ev and Ep oocysts, and PCR was performed with *Eimeria* common primers for the internal transcribed spacer 1 (ITS-1) and plastid open reading frame (ORF) 470 gene. And then TA-cloning was applied on the products and the sequences of insertions were determined from colonies obtained. In result, 7 and 3 haplotypes of ITS-1, 3 and 2 haplotypes of ORF were obtained for Ev and Ep, respectively. Then haplotypes of each region were aligned, and candidates of species-specific primers were designed using Primer Premier 5.0. Minor modification was done by eye so that the primer pairs have higher T_m values and form no secondary structures. The candidate primers for ITS-1 region of Ev and Ep produced specific PCR products with DNA of corresponding species but not with DNA of counter species. The detection sensitivity of the primers and the minimum detection dose of oocysts are now evaluated. We are planning to use the developed primers for checking the species contamination during the maintenance of the two *Eimria* species, but also for assessing the effect of co-infection on pathophysiology such as the potential change of parasites' distribution in the intestine.

寄生虫 8

大分県の野外で採集したキアシツメトゲブユ成虫に見いだされたオンコセルカ幼虫の分子同定

○福田昌子¹、大塚 靖²、高岡宏行³

¹大分大学全学研究推進機構、²鹿児島大学国際島嶼教育研究センター、³マラヤ大学理学部生物学研究所

われわれは大分県における動物寄生性オンコセルカの人体感染の背景を調査する過程で、大分県で7種の動物寄生性オンコセルカ（イノシシ2種、ウシ3種、シカ2種、ニホンカモシカ1種：シカにも寄生）を見だし、その起因種がイノシシに寄生する新亜種 *Onchocerca dewittei japonica* であること、ヒト吸血性キアシツメトゲブユ *Simulium bidentatum* が本起因種の媒介者である可能性が高いことを明らかにした。今回、以前行ったブユ成虫のフィラリア幼虫の自然感染の調査で見いだされたオンコセルカ幼虫の分子同定を行ったので報告する（結果の一部は、第61、66回日本衛生動物学会大会で発表した）。2006年5月から2007年5月まで、大分県大分市で車の排気ガスに誘引されたブユ雌成虫を捕集した。採集したブユを個別に10日間飼育後解剖し、フィラリア幼虫を見いだした。2007年4月と5月に検出された未同定の幼虫のミトコンドリア COI 遺伝子解析を行った。その結果、形態的に2種類に分かれた第3期幼虫は、イノシシ寄生性 *O. dewittei japonica* とウシ寄生性 *O. sp. type A* と、マイクロフィラリアはシカおよびニホンカモシカ寄生性 *O. skrjabini* と同定された。第3期幼虫ではなかったが、*O. skrjabini* の幼虫が、他のオンコセルカ種とともに野外のキアシツメトゲブユに保有されていることが初めて明らかになった。

寄生虫 9

Induction of IL-27-producing CD4⁺ T cells and PD-1/LAG-3 signaling during malaria infection

○Henrietta Terko Doe¹, Daisuke Kimura¹, Mana Miyakoda¹, Kazumi Kimura¹, Masoud Akbari¹
& Katsuyuki Yui¹

¹Division of Immunology, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University

CD4⁺ T cells play a critical role in protection against blood-stage malaria parasites. During infection with *Plasmodium berghei* ANKA, CD4⁺ T cells produce IL-27 in response to T cell receptor (TCR) engagement. These IL-27-producing CD4⁺ T cells, which we name Tr27, are distinct from IFN- γ -producing Th1 or IL-10-producing Tr1 cells. To understand how Tr27 cells are induced, we characterised CD4⁺ T cells from mice infected with four different strains of *Plasmodium*; *P. yoelii* 17XL, *P. yoelii* 17XNL, *P. chabaudi chabaudi* AS, *P. vinckei vinckei* gamma, and the gram-positive bacteria *Listeria monocytogenes*. Here, we show that *Plasmodium*-specific CD4⁺ T cells express PD-1 and LAG-3 and produce IL-27 in response to TCR-stimulation, whereas those from *Listeria*-infected mice express little PD-1 and do not produce IL-27. We also show that IL-27-production by CD4⁺ T cells is independent of TLR signalling. Finally, we show that the *in vivo* blockade of PD-1/LAG-3 signalling using antibodies inhibits IL-27-production by CD4⁺ T cells in *P. berghei*-infected mice, suggesting a link between the induction of Tr27 cells and PD-1/LAG-3 signalling.

寄生虫 10

Antigen-specific CD8⁺ T cell responses against blood-stage of malaria infection in the spleen

○Ganchimeg Bayarsaikhan¹, Mana Miyakoda¹, Kazuo Yamamoto², Daisuke Kimura¹, Masoud Akbari¹, Kazumi Kimura¹ and Katsuyuki Yui¹

¹Division of Immunology, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Graduate school of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki Japan, ²Division of Cell Function Research Support, Biomedical Research Support Center, Nagasaki University School of Medicine

Spleen is a highly structured organ that has important roles during immune responses against blood-borne infections. The dynamics of T-cell responses against bacterial infection has been studied well in the spleen. However, the role and dynamics of T-cell responses during blood-stage malaria infection is not clearly understood. We reported antigen-specific CD8⁺ T cell responses during blood-stage of malaria infection in the spleen using a model system of *Plasmodium berghei* ANKA expressing OVA antigen (PbA-OVA) and CD8⁺ T cells from OVA specific T-cell receptor transgenic mice (OT-I). In this research frame, we seek to better understand the dynamics of immune responses by antigen-specific CD8⁺ T cells in the spleen infected with PbA-OVA in comparison with that infected with *Listeria monocytogenes* expressing OVA (LM-OVA). In mouse received OT-I cells, CD25⁺ or CD69⁺ activated OT-I cells were observed mainly in the white pulp of the spleen during early period after infection with PbA-OVA. Thereafter, the number and proportion of KLRG1⁺ IL7R⁻ effector OT-I cells increased in the red pulp of the spleen, suggesting that OT-I cells were activated in the white pulp of the spleen and then moved to the red pulp. When mice were infected with LM-OVA, the response of OT-I cells in the spleen was similar but kinetics was even faster. Taken together the results suggest that antigen-specific CD8⁺ T cells are primed mainly in the white pulp of the spleen, and then move to red pulp for further expansion and differentiation during infection with both malaria parasite and *Listeria*.

寄生虫 11

マンソン住血吸虫の先行感染がマラリアの病態に及ぼす影響

○森保妙子^{1,3}、中村梨沙¹、井上愛美⁴、Hussein Abkallo²、Richard Culleton²、濱野真二郎¹

¹長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学分野、²長崎大学熱帯医学研究所病理学分野マラリア室、³長崎大学医歯薬学総合研究科、⁴北里生命科学研究所

マラリアと住血吸虫症は共に熱帯地域に特有の感染症であり、流行地では高い頻度で重複感染が見られる。我々は、住血吸虫が先行的に感染している宿主体内でのマラリア病態形成を、スポロゾイト感染後の赤外期および赤内期の両面から評価した。

実験では、まず、重複感染群にマンソン住血吸虫セルカリア 50 隻を感染させ、12 週後に Plasmodium・ヨエリスポロゾイト 1,500 隻を経尾静脈接種した。対照群には同様に、Plasmodium・ヨエリスポロゾイト 1,500 隻のみを接種した。赤外期の評価のため、スポロゾイト接種後 42 時間後に肝臓を採取し、qRT-PCR にて肝内原虫量を定量した。また、赤内期の評価のため、スポロゾイト接種後 3 日目から 10 日目まで末梢血薄層標本にて原虫血症の定量を行った。

その結果、重複感染群では、スポロゾイト接種後 42 時間の肝内原虫量が顕著に低下していた。一方、赤外期に続く赤内期では、先行する住血吸虫感染症はマラリアのピークパラシテミアに影響を与えなかった。現在、上記のメカニズムを明らかにするために、更なる解析を行っている。

寄生虫 12

寄生蠕虫は宿主の IL-4, IL-10, IL-13 シグナルが「同時に」欠損しても抗糖尿病効果を示す

○長田良雄、金澤 保

産業医科大学医学部免疫学・寄生虫学

<目的> マンソン住血吸虫 (Sm) や *H. polygyrus* (Hp) は自然発症型および薬物誘発型の実験的 1 型糖尿病 (T1D) に対して抑制作用を示す。我々はこれまでの研究で、STAT6KO および IL-10KO マウスのいずれにおいてもこれら寄生蠕虫が薬物誘発型 T1D に対し抑制効果を示すことから、IL-4, IL-13, IL-10 いずれのシグナルも抑制効果において必須ではないことを示してきた。しかし IL-10 は IL-4 や IL-13 とは独立に抑制性マクロファージを誘導し得ること、また自然発症 T1D (NOD マウス) の実験系においては IL-4KO マウスにおいて IL-10 を中和することにより Hp の T1D 抑制作用が消失する (Mishra et al., 2013) ことなどから、IL-4 と IL-10 それぞれは T1D 抑制効果に必要なではないが冗長的に (つまり十分条件として) 関与している可能性が考えられた。我々は薬物誘発型 T1D の実験系において STAT6/IL-10 二重欠損 (DKO) マウスを用いることにより、Sm 感染においては両者の冗長的関与が成立しないことを示した (本大会で報告)。さらに、我々と Mishra らの報告との相違が寄生蠕虫種の差によるものか明らかにするため、彼らと同じ Hp を用いて同様の実験を行った。

<方法> Hp 感染幼虫 200 隻を経口感染させ、1 週後にストレプトゾトシン (STZ) 50mg/kg を連続 5 日間腹腔内投与した。初回投与の 1~3 週後に血糖値の測定を行った。

<結果と考察> Hp 感染の場合も、Sm 感染と同様に STAT6/IL-10DKO マウスにおける血糖値上昇抑制効果が観察された。このことから、Sm のみならず Hp も宿主の IL-4, IL-13 および IL-10 のシグナルが同時に欠損しても抗糖尿病効果を示すことが判明した。

寄生虫 13

赤痢アメーバ “マイトソーム” の生理的意義の解明

～コレステロール硫酸産生とシスト形成の制御～

○見市文香¹、宮本智文²、高尾省子¹、Ghulam Jeelani³、橋本哲男⁴、原 博満¹、野崎智義^{3,4}、吉田裕樹¹

¹佐賀大・医学部・免疫学、²九州大学大学院薬学研究院、³感染症研究所、⁴筑波大学大学院生命環境科学研究科

赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)は、ヒトの大腸に感染し、アメーバ赤痢を引き起こす寄生原虫である。生活環は栄養型期とシスト期の2つに大きく分かれ、主な感染経路はシストの経口摂取である。赤痢アメーバのミトコンドリアは極端に退化しておりマイトソームと呼ばれている。マイトソームは、TCA 回路や電子伝達系、 β 酸化といった好氣的ミトコンドリア由来の機能をほとんど失っており、長い間その機能は不明であった。これまでに我々は、マイトソームの主たる機能の1つが硫酸活性化であること、最終代謝産物が構造・機能共に未知の含硫脂質(6種類)であることを明らかにした。含硫脂質の機能を明らかにすることで、マイトソームの原虫での存在意義の解明に繋がりたい、と考え現在解析を行っている。

最初に含硫脂質の同定および機能解析を行うため、含硫脂質の精製方法を確立した。そして6種類の含硫脂質のうち、1つが“コレステロール硫酸(CS)”であることを明らかにした。脂質からの含硫脂質の合成は硫酸基転移酵素(SULT) が担う。赤痢アメーバのゲノム上には10種類のSULTがあり、そのうちの1つ(SULT 6)がコレステロール硫酸基転移酵素であることを見出した。赤痢アメーバの培養株を用いた解析により、栄養体期ではコレステロール硫酸が機能していない可能性が示唆されたので、シスト期での機能に着目した。シスト形成のモデルである近縁種 *Entamoeba invadens* の *in vitro* 培養を用いた解析で、CS合成がシスト形成を誘導すると上昇することを見出した。さらに、CSを培地に加えると形成されるシスト数が増加すること、CSの合成阻害により形成されるシストの数が減少することを見出した。以上のことから、マイトソームによって合成されるCSが、原虫のシスト形成の制御において重要な役割を果たすと考えられる。近縁の自由生活性アメーバである“*Mastigamoeba balamuthi*”は、シスト形成能を持つにもかかわらずCS合成能がないことも見出している。*Entamoeba* 種が宿主のコレステロールからCSを合成する酵素を得て、シスト形成を制御する機構を獲得したことが、宿主への寄生適応に繋がった可能性が考えられた。

寄生虫 14

Parasitemia level difference in gender and MICA-TM polymorphism detected by quantitative real time PCR in chronic Chagas patients from Bolivia

○Clara Vasquez Velasquez¹, Florencia del Puerto², Mihoko Kikuchi¹, Graciela Russomando², Jimmy Robeiro³, Ana Maria Montaña Arias³, Roxana Loayza Mafayle³, Cinthia Avilas Yelin Roca³, Javier Lora³, Juan Eiki Nishizawa⁴, Freddy Udalrico Gutierrez Velarde⁵, Kenji Hirayama^{1*}

¹Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), and Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan, ²Instituto de Investigaciones de Ciencias en Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay, ³Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, Santa Cruz, Bolivia, ⁴Clinica Siraní, Santa Cruz, Bolivia, ⁵Hospital Universitario Japonés, Santa Cruz, Bolivia

*Corresponding author: Kenji Hirayama, Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, 1-12-4 Sakamoto, 852-8523, Japan. Telephone: +81 (0) 958197820. Email: hiraken@nagasaki-u.ac.jp.

The importance for *Trypanosoma cruzi* parasitemia detection in blood samples is necessary as a follow-up for the pathogenesis and treatment of Chagas Disease. In this report, Quantitative real-time PCR assay (qPCR) for the quantitation of DNA gene copies was used with a dual-labeled TaqMan Probes for the simultaneous detection of *T. cruzi* and human DNA copies in 303 samples from chronic Chagas patients, previously analyzed by our group in which a protective haplotype HLA-B*14:02-DRB1*01:02 against chronic Chagas disease was reported. The parasitemia results were compared with its distribution in gender, DTU lineages, clinical forms of Chagas disease and HLA complex gene subgroups. The median parasitemia found in male patients was significantly high than the one estimated in female patients (U: 9101; Female median: 0.0000121p/10mL; male median: 0.20p/10mL; P_v= 0.00368). In addition, the allele A6 of MICA in male patients influences significantly to a lower parasitemia in male patients compare to those male patients without this allele (U = 756; P_v= 0.0027; P_c= 0.027). Therefore, our data suggest, qPCR was able to quantify parasite levels and allows to correlate gender as a co-factor in the parasite level.

寄生虫 15

実験感染鶏におけるイヌ回虫、ネコ回虫、ブタ回虫体内移行幼虫の分布

○後田眞樹¹、吉田彩子¹、早田弥生²、Yen TH Nguyen²、王 珍珍¹、堀井洋一郎^{2,3}、丸山治彦^{1,3}、三澤尚明³、野中成晃^{2,3}

¹宮崎大・医・寄生虫学、²宮崎大・農・獣医寄生虫病学、³宮崎大・産業動物防疫リサーチセンター

イヌ回虫、ネコ回虫、ブタ回虫などによる動物由来回虫症は、我が国における代表的な人獣共通寄生虫症である。回虫類のヒトへの感染ルートとしては、野菜や土などから幼虫包蔵卵を経口摂取するルートが主要であるとされていたが、近年、特に東アジア地域においては、感染した家畜の肉や内臓を生で摂食することによる感染ルートに注目が集まっている。以前より、動物由来回虫症の原因として鶏肉・鶏内臓の生食の可能性が指摘されており、ニワトリを用いた感染実験による検討も行われているが、その検討期間は感染 4 週未満のものが多く、実際の肉用鶏、特に生食機会の多い地鶏の飼育期間に相当する 80 日以上の間をおいた検討はほとんどなされていない。そこで我々は、ニワトリの肉・内臓の生食からの動物由来回虫症の感染リスクをより正確に評価するために、イヌ回虫、ネコ回虫、ブタ回虫を実験的に感染させたニワトリにおける、感染 12 週（84 日）後の体内移行幼虫の分布について検討を行った。

31 日齢のニワトリ（ジュリア種）の雌に、イヌ回虫、ネコ回虫、ブタ回虫の幼虫包蔵卵を、イヌ回虫卵とネコ回虫卵は 2,000 個、ブタ回虫卵は 50,000 個経口投与し、感染 12 週目に、生食用に提供される機会の多い肝臓、筋胃（砂肝）、ムネ肉、モモ肉、ササミを対象として、ペプシン-HCl 液を用いた人工消化法により幼虫を回収した。肝臓、筋胃、ササミについては全量を、ムネ肉、モモ肉については 50g を人工消化に用いた。

まず、イヌ回虫およびネコ回虫感染鶏については全ての感染鶏から幼虫が回収されたが（ともに 5/5 羽）、ブタ回虫感染鶏からは全く幼虫が回収されなかった（0/3 羽）。イヌ回虫とネコ回虫の幼虫移行部位については、以前の報告と同様、イヌ回虫幼虫は肝臓に、ネコ回虫幼虫は筋肉に移行する傾向が確認された。それぞれの組織中の幼虫数を比較すると、イヌ回虫感染鶏では肝臓 1g 中に平均 0.86 隻（0.39 - 1.46 隻）であったのに対し、ムネ肉、モモ肉、ササミからは全く回収されなかった。ネコ回虫感染鶏では、肝臓 1g 中では平均 0.02 隻（0 - 0.05 隻）であったが、ムネ肉 1g 中からは平均 0.29 隻（0.02 - 0.70 隻）、モモ肉 1g 中は平均 0.14 隻（0.08 - 0.24 隻）の幼虫が回収された。一方で、ネコ回虫感染鶏のササミにおける 1g 中の平均幼虫数は 0.005 隻（0 - 0.02 隻）と低く、筋肉であっても幼虫の分布に違いのあることが示唆された。

今回の実験において、感染 12 週後のニワトリからイヌ回虫およびネコ回虫幼虫が回収されたことから、地鶏の様に比較的長期間飼育されていたとしても感染幼虫は体内に寄生し続けるため、ニワトリの肉や内臓は動物由来回虫症の原因食材となる可能性が示唆された。現在、ニワトリにおける回虫類の感染状況については十分な検討が行われておらず、動物由来回虫症の原因食材としての鶏肉や内臓の実際のリスクも不明な点が多いが、これらの生食には回虫類感染の危険性が伴うということを消費者に対して周知していくべきであると思われる。

寄生虫 16

競合 ELISA 法を用いた肉用牛におけるトキソカラ属回虫、豚回虫の抗体保有状況調査

○田中 舜¹、吉田彩子²、堀井洋一郎^{1,3}、三澤尚明³、丸山治彦^{2,3}、野中成晃^{1,3}

¹宮崎大・農・獣医・獣医寄生虫病学、²宮崎大・医・寄生虫学、³宮崎大・産業動物防疫リサーチセンター

動物由来回虫症はトキソカラ属回虫（犬回虫、猫回虫）や豚回虫などの動物を本来の固有宿主とする回虫が、ヒトに感染することによって起こる人獣共通寄生虫症である。ヒトへの感染については、以前は、偶発的な虫卵の摂取が主要な感染経路として考えられていたが、近年、特に日本では、回虫類に感染した動物の内臓や筋肉の生食、すなわちそこに含まれる幼虫を摂取し感染するという経路が問題視されるようになってきている。現在、日本では生食用牛レバーの販売・提供は禁止されているものの、牛肉はレアの状態で喫食される機会も多く、動物由来回虫症の原因食材となる可能性は否定できない。しかし、肉用牛でのトキソカラ属回虫や豚回虫の感染状況や、牛肉の生食からの感染リスクについての検討は十分に行われているとは言えず、牛を対象とした検査法についても確立していない。

これまでに、宮崎県内 2 か所のと畜場から分与された肉用牛の血清に対して、豚回虫成虫虫体抽出抗原 (AsSWAP) を用いて回虫類に対する抗体のスクリーニング検査 (ELISA) を行ったところ、抗体陽性率は 26.0% (86 / 337 検体) であった。しかしながら、南九州では牛において牛回虫の感染が報告されており、これがスクリーニング検査での抗体陽性率に影響を与えている可能性が考えられる。そこで本研究では、上記血清に対して、牛回虫成虫虫体抽出抗原 (NvSWAP) を用いた競合 ELISA を行い、トキソカラ属回虫および豚回虫の肉用牛における感染状況のより正確な評価を試みた。

宮崎県内 2 か所のと畜場から分与された肉用牛の血清 337 検体のうち、AsSWAP を用いたスクリーニング検査で抗体陽性となった血清 86 検体を評価対象とした。初めに、トキソカラ属回虫または豚回虫に虫種特異性が高いとされる犬回虫幼虫排泄分泌抗原 (TcES)、豚回虫幼虫排泄分泌抗原 (AsES) および NvSWAP を用いた間接 ELISA を行い、次に NvSWAP を競合抗原、TcES、AsES、NvSWAP を ELISA 抗原とした競合 ELISA を行った。

まず、NvSWAP を用いた間接 ELISA を行ったところ、AsSWAP を用いたスクリーニング検査で陽性であった 86 検体すべて (100%) が陽性であった。また、TcES と AsES を抗原とする間接 ELISA の結果から感染虫種を推定したところ、トキソカラ属回虫感染疑いが 86 検体中 30 検体 (34.9%)、豚回虫感染疑いが 70 検体 (81.4%) みられた。次に、NvSWAP を競合抗原とする競合 ELISA を行った。競合抗原と同じ NvSWAP を抗原とする ELISA では全検体で OD 値の低下が認められ、NvSWAP による競合阻害 (抗体吸収) が効率的に起こっていることが確認された。AsES を用いた ELISA でも、NvSWAP による競合阻害により多くの検体が OD 値の減少を示した。しかしながら、16 検体においては NvSWAP の競合阻害による OD 値の減少が顕著ではなく、これらについては豚回虫感染の可能性が高いと考えられた。一方、TcES を用いた ELISA では NvSWAP による競合阻害の影響はあまり見られず、TcES と NvSWAP との間の交差抗原性は低いと考えられた。競合 ELISA の結果をまとめると、トキソカラ属回虫感染が疑われる検体は 86 検体中 30 検体 (34.9%) と間接 ELISA の結果と同じであったのに対し、豚回虫感染疑いは 16 検体 (18.8%) と間接 ELISA の結果に比べて大きく減少した。また、農家により、トキソカラ属回虫および豚回虫に対する抗体保有傾向に違いがあることが示唆された。

以上の結果から、肉用牛の中には牛回虫抗原に反応する抗体を保有している個体がみられるため、トキソカラ属回虫や豚回虫に対する抗体検査を行う場合は、牛回虫抗原反応抗体との交差反応の影響を考慮する必要があることがわかった。また、農家により推定される感染虫種が異なる傾向がみられ、これらの農家にはそれぞれ異なるトキソカラ属回虫または豚回虫による汚染経路が存在すると考えられた。今後は農家に対してアンケート等による飼養状況調査を行い、肉用牛への回虫類の感染経路の特定を進めていくとともに、農家の実態に即した感染予防対策へとつなげていきたい。

寄生虫 17

九州産サバの水揚げ地別のアニサキス寄生率・筋肉移行率および寄生アニサキス種の解析

○白神浩平¹、飛弾野真也¹、中村匠子¹、野口香緒里¹、水上一弘²、村上和成²、八尋隆明³、西園 晃³、神山長慶¹、林田京子⁴、小林隆志^{1,4}

大分大・医・¹感染予防医学、²消化器内科学、³微生物学、⁴動物実験部門

古来、日本人は寿司や刺身などにより海産魚介類の生食を嗜好することで、多くの寄生虫症を経験してきた。現在、その中で最も多発するもののひとつにアニサキス症が知られており、年間 7,000 例超も発症する重要な寄生虫性疾患であるが、効果的な駆虫薬はなく、治療は専ら内視鏡下による摘出である。海棲ほ乳類を終宿主とするアニサキス (*Anisakis*)は、幼虫期にサバなどの魚類に寄生し、ヒトがこれを生食するとその幼虫が胃壁に穿入して激しい腹痛を引き起こす。近年の分子生物学的手法の発展により、アニサキス属線虫を簡単に分類できるようになり、種の違いによるアニサキス症を引き起こす能力の違いが議論されている。また、アニサキスは日本海側と太平洋側で異なる種が分布することが報告されている。そこで我々は、サバの水揚げ地別のアニサキス幼虫の寄生率、筋肉移行率、およびアニサキス種について解析を行った。

長崎県あるいは大分県南部（佐伯、蒲江など）で水揚げされたサバと大分市佐賀関で水揚げされた所謂「関サバ」を調査した。長崎県産あるいは大分県南部産については、各漁港から水揚げされたサバを新鮮な状態で購入し、即日解剖して内臓および筋肉を調査した。関サバについては大分県漁業協同組合佐賀関支店の協力を得て内蔵を分与していただき調査した。

その結果、大分県南部で水揚げされたサバは、長崎県産のサバよりもアニサキス幼虫の寄生率が低く（38% vs 73%）、さらに関サバの寄生率は低かった（9.4%）。また、調査した全てのサバの一個体あたりのアニサキス幼虫の寄生数は、長崎県産が 11.7 ± 28.7 匹、大分県南部産が 2.2 ± 4.7 匹、関サバが 1.0 ± 6.7 匹であった。今回の調査で筋肉に移行しているものは認められなかった。さらに PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)法によって解析し、大分県産のサバに寄生していたものが主に *Anisakis simplex sensu stricto* であり、長崎県産のものは *Anisakis pegreffii* であることが明らかになった。

以上の結果から、サバの生息域によってアニサキス幼虫の寄生率・寄生数および種が異なることが示された。これらの違いが、アニサキス症の発症率や病態形成とどのように関連するか引き続き解析したいと考えている。

衛生動物 5

房総半島におけるシカの密度とマダニの密度との関係

○角田 隆¹、落合啓二²、浅田正彦³

¹長崎大学熱帯医学研究所ベトナム拠点、²千葉県立中央博物館、³千葉県生活環境部生物多様性センター

日本紅斑熱の患者は千葉県から西の太平洋側を中心に発生し、フタトゲチマダニが有力なベクターであると考えられている。ニホンジカはフタトゲチマダニにとっては重要な宿主であるため、シカの個体数の変動はマダニの密度に影響を及ぼし、その結果日本紅斑熱患者の発生数に影響すると考えられる。

千葉県では 1992 年から毎年県南部においてニホンジカの生息密度調査が行われ、その結果にもとづいて 1 年間のシカの捕獲頭数が決められている。演者らは 2000 年から 2008 年までシカの密度調査の際に参加者のズボンに布を巻き付けてもらって布に付着したマダニを回収し、顕微鏡下で同定した。

調査地全体で最も個体数が多かったのはオオトゲチマダニ若虫で次に多かったのはフタトゲチマダニ若虫であった。調査地のうち 3 ヶ所で当年、1 年前、2 年前のシカの密度と当年のマダニの密度との関係について解析を行ったところ、有意な相関は見られなかった。調査地別に当年のシカ密度とマダニの密度について解析したところ、シカの密度が 10 頭/km²の場所でマダニの密度が最も高くなり、シカの密度が 20 頭/km²のような場所ではかえってマダニの密度は低くなった。調査時の平均気温とマダニの密度においても有意な相関は見られなかった。そのため、シカが高密度になった時にマダニの密度に対して負の影響を及ぼすような何らかの要因が働いていると考えられた。

衛生動物 6

Identification and Expression of two Glutathione S-Transferases from the hard tick *Haemaphysalis longicornis*

○Emmanuel Pacia Hernandez¹, Kodai Kusakisako^{1, 2}, Hiroki Maeda^{1, 2}, Remil Linggatong Galay^{1, 3}, Masami Mochizuki^{1, 2}, Kozo Fujizaki⁴, Tetsuya Tanaka^{1, 2}

¹Laboratory of Infectious Diseases, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, ²Department of Pathological and Preventive Veterinary Science, Yamaguchi University, ³Department of Veterinary Paraclinical Sciences, University of the Philippines at Los Baños, ⁴Zen-noh Institute of Animal Health

Ticks are obligate hematophagous parasites of economic and health importance. Tick control is mostly dependent on the use of acaricides. Glutathione S-Transferase (GST) is being implicated to the development of acaricide resistance. We have isolated two full-length *GST* cDNAs (*HIGST1* and *HIGST2*) from *Haemaphysalis longicornis* midgut based on the cDNA library. The isolated *HIGST1* gene has 672 bp from the start to end codon, encoding for 223 amino acids, while *HIGST2* gene has 693 bp encoding for 230 amino acids. Both GSTs are closely related to the mammalian mu-class GST as shown by the conserved mu-class motif and mu loop in the N-terminal domain. Comparison of the two GSTs shows 50% homology in the amino acid sequence. Compared to other tick GSTs, *HIGST1* has 91% similarity to *Dermacentor variabilis* putative GST, 90% similarity to *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* GST and 85% similarity to putative *Ixodes scapularis* GST. On the other hand, *HIGST2* has 64% similarity to putative *Ixodes scapularis* GST, 49% homology with *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* GST, and also 49% similarity to *Dermacentor variabilis* GST. The prediction of amino acid analysis indicates that the *HIGST1* and *HIGST2* proteins have no signal peptides and N-glycosylation sites and both have two disulfide bonds. Both the *GSTs* have been successfully cloned and the recombinant proteins have already been expressed. The cloned genes were expressed in *E. coli* under T7 promoter of pRSET-A vector. The expressed recombinant GSTs appeared as single bands on 12% SDS-PAGE and have predicted molecular weights of around 28.7 kDa and 29.3 kDa, including the histidine tag of the vector, for *HIGST1* and *HIGST2* respectively. Both recombinant proteins are found to be soluble proteins. Currently, studies are being conducted to determine the enzymatic activity of the recombinant GSTs.

衛生動物 7

Aedes (Stegomyia) scutellaris グループ蚊のチクングニアウイルスに対する感受性・媒介能の比較

○相馬颯介^{1,2}、林田京子²、飛弾野真也¹、神山長慶¹、黒川昌悟^{1,2}、野口香緒里¹、福田昌子³、Narumon Komalamisra⁴、牛島廣治⁵、倉根一郎⁶、高崎智彦⁶、小林隆志^{1,2}、江下優樹^{1,4}

大分大・¹医・感染予防医学講座、²動物実験部門、³全学研究推進機構、⁴マヒドン大学熱帯医学部、⁵日大・医・微生物学教室、⁶国立感染症研究所ウイルス一部

チクングニア熱は、アルファウイルス属のチクングニアウイルス (CHIKV) によって引き起こされ、発熱、関節痛、筋肉痛を主症状とする急性熱性疾患である。未だに有効なワクチンや抗ウイルス薬がなく、対症療法が主である。CHIKV はタンザニアで発見されてから、アフリカ、東南アジアで流行が確認され、その後、レユニオン島での大流行（感染者 15 万人以上、死者 237 人）を機にアジア、カリブ海諸国を含む北アメリカ、南太平洋地域でも報告され、世界的な拡大傾向にある。CHIKV はネッタイシマカ *Aedes (Stegomyia) aegypti* やヒトスジシマカ *Ae. (Stg.) albopictus* によって媒介されることでヒトへの感染が成立する。しかし、日本に分布するヒトスジシマカの近縁種であるヤマダシマカ *Ae. (Stg.) flavopictus* やリバーズシマカ *Ae. (Stg.) riversi* の媒介能については詳細な研究はなされておらず、これまで我々は、国内に生息するこれらヒトスジシマカの近縁種の CHIKV に対する感受性及びその媒介能について実験的に検討を行ってきた。

蚊の培養細胞株 (C6/36 細胞) で増殖させた CHIKV 液をブタの腸を用いた Hemotek membrane を用いる人工吸液法と綿花に浸して吸液させる方法を併用して、上記 3 種蚊へ 1 時間経口感染させ 14 日間飼育した後、脚を除く胴体から RT-PCR 法にて CHIKV ゲノムの検出を試み、感受性を検討した。さらに、胴体にてウイルスゲノムが検出された個体については、脚からの CHIKV ゲノムの検出を試み、ここで陽性となった個体は CHIKV の媒介能を有する可能性が高いと判定した。その結果、3 種蚊が CHIKV に対する感受性と媒介能を有することが明らかとなり、昨年の本大会で報告した。今回、同様の感染実験を行い、例数を増やした上で、*Ae. (Stg.) flavopictus* および *Ae. (Stg.) riversi* の感受性・媒介能を *Ae. (Stg.) albopictus* と比較したので報告する。

衛生動物 8

チクングニアウイルスの迅速診断のための乾燥 RT-LAMP 法の開発

○林田京子¹、山岸純也²、杉本千尋²、若栗浩幸³、Lucky Ronald Runtuwene³、小林隆志¹、鈴木 穰³、江下優樹¹

¹大分大・医、²北大・人獣センター、³東大・新領域

2014年夏、東京の有名公園を発端として約70年ぶりにデング熱の国内感染症例が報告され大騒動となった。幸いその後感染の拡大は報告されていないが、人・物の移動拡大を伴う現代において、再度蚊媒介性ウイルスが日本国内へ侵入し大流行を起こす可能性は避けられない。

チクングニア熱はデング熱と同じくヤブ蚊が媒介する熱性疾患であり、症状がデング熱と類似して鑑別診断が難しい。近年レユニオン島で多数の死者を出した高病原性チクングニアウイルスの流行が報告され、この際の媒介蚊は日本国内にも分布するヒトスジシマカであった。チクングニア熱は簡便診断法が開発されていないため、診断はもっぱら RT-PCR に依存している。RT-PCR は高感度かつ確定的ではあるが、機器の揃った実験室と時間を要する。従ってチクングニアウイルスの国内侵入に備え、より迅速かつ簡便な診断方法の開発が喫緊の課題である。

我々はチクングニア症を迅速かつ簡便に診断できる、RT-LAMP 診断法を開発したので報告する。本 RT-LAMP 法では RT 酵素を含むすべての試薬を乾燥化させているため、室温での保存や操作が可能であった。また、未精製の培養液や全血中のウイルスからの遺伝子検出も可能であった。さらに、患者血液を本乾燥 RT-LAMP 試薬を用いて増幅した反応産物を鋳型とし、ポータブル次世代シーケンサーである MinION (Oxford 社) で反応させ、その塩基配列を解読した。本次世代シーケンサー MinION は USB 駆動型かつ使い捨てであり、パソコンさえあれば1日で結果を出力できる仕様となっている。すなわち患者血液から次世代シーケンス解析までを、実験室のない場所で確定診断まで行うための診断フローを確立する事に成功した。これら一連の方法は、いかなる環境においても実用可能な迅速簡易診断方法として、今後幅広い病原体に有用と考えている。