

第 63 回日本寄生虫学会南日本支部大会
第 60 回日本衛生動物学会南日本支部大会
合 同 大 会

プ ロ グ ラ ム
講演要旨

2 0 1 0

会期：平成 22 年 11 月 6 日(土)・7 日(日)
会場：鹿児島大学 農学部 共通棟 101 号教室
大会長：鹿児島大学農学部獣医学科 教授 藤崎幸蔵
大会事務局：鹿児島大学農学部獣医学科・新興感染症学分野
〒890-0065 鹿児島市郡元 1 丁目 21-24
TEL：099-285-3569
FAX：099-285-3569
E-mail：tick@ms.kagoshima-u.ac.jp

ご 案 内

1. 受付：11月6日（土）

鹿児島大学農学部共通棟 101 号教室前にて受付を 12 時 45 分から行います。

2. 会費：参加費 2,000 円（学生無料）、懇親会費 3,000 円（学生 2,000 円）

参加費・懇親会費は当日会場にて現金でお支払い下さい。

3. 一般講演：すべて口頭発表で行います。

発表時間は、発表 8 分、質疑応答 4 分の合計 12 分で、PowerPoint を用いた液晶プロジェクターによる発表のみとします。

4. スライドの締め切り：

1) 講演内容は 10 月 25 日（月）まで（必着）に大会事務局に PowerPoint で作成したファイルを CD-R メディアに保存して郵送してください。なお、OS は Windows に限らせて頂きます。氏名、所属、PowerPoint Version を必ず明記してください。

2) 画像ファイルはなるべく容量を小さくして、動画は使用しないでください。

なお、サイズの大きい画像は事務局でサイズを変更させて頂くことがありますので、御了承ください。

・あて先：〒890-0065 鹿児島市郡元 1 丁目 21-24

鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野

田仲哲也宛（南日本支部大会事務局）

電話・Fax：099-285-3570 E-mail：tetsuya@ms.kagoshima-u.ac.jp

5. 学会誌掲載用抄録：

「衛生動物」発表者は別に学会誌掲載用抄録が必要です。抄録のフォームは日本衛生動物学会ホームページ http://www.jsmez.gr.jp/abstract_dl.html から書式をダウンロードして、抄録を作成してください。「抄録」は大会当日、受付に提出してください。

6. 日本寄生虫学会南日本支部評議委員会・日本衛生動物学会南日本支部運営委員会：

鹿児島大学農学部 33 セミナー室で 11 月 6 日 12 時半から開催致します。委員会での昼食は事務局で用意します。

7. 特別講演：「新たに同定したアフリカトリパノソーマのツェツェバエ体内

ステージ特異的表面分子 CESP について」

帯広畜産大学原虫病研究センター 井上 昇 先生

8. 懇親会：大会1日目（11月6日土曜日）

講演終了後、鹿児島サンロイヤルホテルで行います。皆様の御参加をお願い致します。会場までは送迎バスを用意致しますので、御利用ください。

9. その他：クローク、休憩室として会場のとなりの部屋を用意致しますので、御利用ください。

尚、敷地内は指定された喫煙所以外は禁煙となっております。ご案内いたします場所以外での喫煙はご遠慮いただきますようご協力下さい。

10. 会場のアクセス：

飛行機を利用される方は……鹿児島空港から JR 鹿児島中央駅へは空港リムジンバスで40～60分です。JR 鹿児島中央駅から鹿児島大学郡元キャンパスは徒歩20分、車で5分です。

市営バスを利用される方は…鹿大正門前バス停(徒歩1分)を御利用ください。

市電を利用される方は……工学部前電停(徒歩5分)・騎射馬電停(徒歩10分)を御利用ください。

自家用車を利用される方は…駐車場を確保していますので、正門の学会事務局スタッフに学会参加者とお申し出ください。

第 6 3 回日本寄生虫学会南日本支部大会
第 6 0 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 11 月 6 日 (土)	第 2 日 目 11 月 7 日 (日)
1 2 : 3 0 ~ 1 3 : 4 5 評議委員会/運営委員会 1 3 : 4 5 ~ 1 3 : 5 5 休憩 (移動) 1 3 : 5 5 ~ 1 4 : 0 0 開会挨拶 1 4 : 0 0 ~ 1 5 : 1 0 一般講演 6 題 (寄生虫 1・2・3・4・5・6) 1 5 : 1 0 ~ 1 5 : 3 0 休憩 1 5 : 3 0 ~ 1 6 : 3 0 一般講演 5 題 (衛生動物 1・2・3・4・5) 1 6 : 3 0 ~ 1 6 : 4 5 休憩 1 6 : 4 5 ~ 1 7 : 4 5 特別講演 1 7 : 4 5 ~ 1 8 : 3 0 移動 1 8 : 3 0 ~ 懇親会：鹿児島サンロイヤルホテル	9 : 3 0 ~ 1 0 : 3 0 一般講演 5 題 (寄生虫 7・8・9・10・11) 1 0 : 3 0 ~ 1 0 : 4 5 休憩 1 0 : 4 5 ~ 1 1 : 1 5 一般講演 3 題 (衛生動物 6・7・8) 1 1 : 1 5 ~ 1 1 : 2 5 休憩 1 1 : 2 5 ~ 1 1 : 5 5 総会 1 1 : 5 5 ~ 1 2 : 0 0 閉会挨拶

11月6日(土)

評議委員会/運営委員会

一般講演(寄生虫:6題:衛生動物:5題)

特別講演:1題

12:30~13:45 評議委員会/運営委員会

13:55~14:00 開会挨拶

14:00~14:35 座長:堀井 洋一郎(宮崎大学農学部獣医寄生虫病学)

寄生虫1

皮膚型リーシュマニア症におけるFTAカードのPCR診断への応用

○柁原ゆい¹、清田聡美²、池田勝義¹、大林光念^{1,3}、安東由喜雄^{1,3}、三森龍之⁴

(¹熊本大学医学部附属病院・中央検査部、²広島県・福山臨床検査センター、³熊本大学大学院・生命科学研究部・病態情報解析学分野、⁴熊本大学大学院・生命科学研究部・医療技術科学講座)

寄生虫2

マウスモデルを用いた赤痢アメーバの病原性発現機構の解析

下川周子¹、小林正規²、千馬正敬³、加藤健太郎¹、大野民生⁴、○濱野真二郎^{1,5}

(¹長崎大・熱研・寄生虫学、³病理学、⁵Global COE Program、²慶應大・医・熱帯医学・寄生虫学、⁴名大院・医・支援センター・実験動物)

寄生虫3

コラーゲン関節炎に対する蠕虫感染の影響—*Heligmosomoides polygyrus* の場合—

○長田良雄、黒田悦史、金澤保

(産業医科大・医・免疫学寄生虫学)

14:35~15:10 座長 濱野 真二郎(長崎大学熱帯医学研究所寄生行動制御)

寄生虫4

Eimeria vermiformis 感染マウスでの toltrazuril 治療後の再感染抵抗性獲得要因の検討

○南野知也、宮里亜依、山口洋平、三堂祥吾、野中成晃、堀井洋一郎

(宮崎大学農学部獣医学科獣医寄生虫病学研究室)

寄生虫5

マウスに寄生するコクシジウム、*Eimeria kriegsmanni* におけるオーシストの熱処理による殺滅効果

藤野隆志¹、薬師寺暁¹、○松尾智英²、松井利博¹

(¹杏林大学医学部感染症学講座寄生虫学分野、²鹿児島大学農学部獣医学科病態予防獣医学講座寄生虫病学分野)

寄生虫 6

フタトゲチマダニロンギシン P4 のトキソプラズマに及ぼす影響

○田仲哲也¹、前田大輝¹、松尾智英²、Md. Morshedur Rahman¹、Boldbaatar Damdinsuren¹、
白藤（梅宮）梨可¹、玄 学南³、辻 尚利⁴、藤崎幸蔵¹
（¹鹿児島大・農・新興感染症、²寄生虫、³帯畜大・原虫研、⁴農研機構・動衛研）

15:30～15:55 座長 當間 孝子（琉球大学医学部保健学科国際保健学分野）

衛生動物 1

TOR 経路はフタトゲチマダニのビテロジェニン合成に必須である

○白藤（梅宮）梨可、Damdinsuren Boldbaatar、田仲哲也、藤崎幸蔵
（鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野）

衛生動物 2

*Simulium quinquestriatum*とその近縁種の系統解析

○大塚靖、青木千春、高岡宏行
（大分大学医学部感染予防医学講座）

15:55～16:30 座長 大塚 靖（大分大学医学部感染予防医学講座）

衛生動物 3

C6/36 細胞における Met 遺伝子の部分配列の決定

○倉重友和、佐藤朝光、福光由起、入江圭一、中島幸彦、鹿志毛信広、見明史雄
（福岡大学薬学部微生物薬品化学）

衛生動物 4

沖縄県の動物園で採集された蚊と吸血源動物

○當間孝子、宮城一郎、玉城美加子
（琉球大学医学部保健学科国際保健学分野）

衛生動物 5

鹿児島県徳之島の蚊相と 9 新記録種

○宮城一郎、當間孝子、玉城美加子、万年耕輔
（琉球大学医学部保健学科国際保健学分野）

16:45～17:45 座長 藤崎 幸蔵（鹿児島大学農学部獣医学科新興感染症学分野）

特別講演

新たに同定したアフリカトリパノソーマのツェツェバエ体内ステージ特異的表面分子 CESP について
井上 昇（帯広畜産大学原虫病研究センター先端予防治療学分野）

18:30～懇親会

鹿児島サンロイヤルホテル

11月7日（日）

一般講演（寄生虫：5題：衛生動物：3題）

総会

9：30～9：55 座長 長田 良雄（産業医科大学医学部免疫学・寄生虫学）

寄生虫7

ブタ回虫症血清診断用抗原候補分子のファージディスプレイ法を用いた網羅的検索

○吉田彩子¹、堀井洋一郎²、丸山治彦¹

（¹宮崎大・医・感染症学・寄生虫学、²宮崎大・農・獣医・獣医寄生虫病学）

寄生虫8

幼虫移行症の診断における局所液の有用性

吉田彩子、長安英治、○丸山治彦

（宮崎大・医・感染症学・寄生虫学）

9：55～10：30 座長 丸山 治彦（宮崎大学医学部感染症学・寄生虫学）

寄生虫9

The effects of a long-lasting nematode, *Trichinella spiralis*, infection on serum paraoxonase-1 activity in rats

○Shogo Mido¹, Ayman Samir Farid^{1,2}, Nariaki Nonaka¹, Yuzaburo Oku³ and Yoichiro Horii¹

（¹Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki・²Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Benha University・³Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University）

寄生虫10

中国・四国地方におけるイノシシ猟犬の肺吸虫感染状況

○入江隆夫、山口洋平、三堂祥吾、南野知也、郭志宏、野中成晃、堀井洋一郎

（宮崎大学農学部獣医学科獣医寄生虫病学研究室）

寄生虫11

56歳の炭鉱跡地居住者に発症した播種性糞線虫症の1例

清水少一¹、長田良雄¹、○金澤 保¹、石井悠海²、長谷川英男²、後藤 慶³、新庄貴史⁴

（¹産業医科大学医学部免疫学・寄生虫学、²大分大学医学部生物学、³産業医科大学病院感染制御部、⁴産業医科大学病院救急・集中治療部）

10：45～11：15 座長 三森 龍之（熊本大学大学院生命科学研究部病態情報解析学分野）

衛生動物6

Functional analysis of class B scavenger receptor CD36 from the hard tick, *Haemaphysalis longicornis*

○Kyaw Min Aung, Damdinsuren Boldbaatar, Rika Umemiya-Shirafuji, Tetsuya Tanaka, Kozo Fujisaki

（Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Department of Frontier Veterinary Medicine, Kagoshima University）

衛生動物 7

フタトゲチマダニにおけるオートファジー関連遺伝子 *HLATG6* 発現抑制の産卵への影響
○川野 優、白藤（梅宮）梨可、Damdinsuren Boldbaatar、田仲哲也、藤崎幸蔵
（鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野）

衛生動物 8

フタトゲチマダニにおけるセリン/スレオニンキナーゼ Akt の発現及び機能解析
○田中 徹、白藤（梅宮）梨可、Damdinsuren Boldbaatar、田仲哲也、藤崎幸蔵
（鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野）

11 : 25 ~ 11 : 55 総会

11 : 55 ~ 12 : 00 閉会挨拶

講演要旨

特別講演

新たに同定したアフリカトリパノソーマのツェツェバエ体内ステージ特異的 surface 分子 CESP について

井上 昇 帯広畜産大学原虫病研究センター 先端予防治療学分野
OIE リファレンスラボラトリー (*Trypanosoma evansi*)

アフリカトリパノソーマの細胞表面蛋白質は細胞外環境とのインターフェースとして原虫と宿主あるいは原虫とベクターとの相互作用において重要な役割を担っている。例えば、動物宿主の血流中に寄生する血流型(BSF)が細胞表面を覆う variant surface glycoprotein (VSG)の抗原変異により免疫応答を回避していることはよく知られた事実である。BSF から分化しツェツェバエの中腸内に寄生するプロサイクリック型(PCF)では主要表面蛋白質が glutamic acid/alanine rich protein (GARP)に置き替わる。GARP などの PCF 特異的 surface 蛋白質はツェツェバエ中腸内に存在する消化酵素や抗菌ペプチドなど物理的ストレスから虫体を保護する機能があると考えられている。しかしツェツェバエ唾液腺や下咽頭に接着して増殖するエピマスティゴート型(EMF)の主要表面蛋白質に関しては不明のままであった。我々は *Trypanosoma congolense* EMF 特異的な新規細胞表面蛋白質を同定し「*congolense* epimastigote-specific protein (CESP)」と命名して現在その機能および転写・翻訳制御について研究を行っている。天然型 CESP は分子量約 100 kDa で、約 4 kDa の N 型糖鎖を有する GPI アンカー性の細胞表面糖蛋白質である。EMF がツェツェバエの下咽頭内腔に接着する *T. congolense* とは異なり唾液腺に接着寄生する *T. brucei* のゲノムデータベースからは CESP と相同性が高い遺伝子を見出せなかった。このことは *T. congolense* と *T. brucei* とでそれぞれの EMF 虫体が互いに全く異なるツェツェバエとの分子相互作用によって接着している可能性、ならびに CESP が *T. congolense* EMF のツェツェバエ体内寄生部位特異性に関与していることを示唆しており、興味深い。

トリパノソーマ遺伝子はポリシストロンとして転写され、それによって生じた pre-mRNA がトランススプライシングによって 5'-非翻訳領域 (UTR) にスプライスリーダーが、3'-UTR には poly A テールが付加されて成熟 mRNA となり蛋白質へと翻訳される。したがってトリパノソーマの細胞分化ステージ特異的 surface 蛋白質の発現は転写レベルではなく、転写後あるいは翻訳の前後に調節される。近年、その発現調節に mRNA の 3'-UTR が関与していることが明らかとなった。BSF から PCF への分化誘導では動物体内から昆虫体内という 10°C 近い温度変化に加えて、血液中から昆虫中腸内という寄生環境の変化が必須である。それでは中腸内と下咽頭という寄生部位の違いはあるにせよ、互いにツェツェバエ体内に寄生する PCF から EMF への分化誘導ではどのような因子が引き金となっているのだろうか？我々は CESP の転写・翻訳制御メカニズムの解明を糸口としてこの問いに答えを見出すべく研究を実施している。上述したようにトリパノソーマの遺伝子発現制御では mRNA の UTR が重要な役割を担っている。そこで *T. congolense* の全ステージで恒常的に発現している actin の

5'-UTR (5A)と 3'-UTR (3A)、ならびに EMF 特異的 CESP の 5'-UTR (5C)と 3'-UTR (3C)をレポーター遺伝子として用いた eGFP の上流と下流に挿入し、4 種類の遺伝子発現プラスミド (pSAK2/5A-eGFP-3A, pSAK2/5A-eGFP-3C, pSAK2/5C-eGFP-3A, pSAK2/5C-eGFP-3C)を作製した。これらのプラスミドを野生型 PCF にトランスフェクションし、4 株の遺伝子組換え PCF (PCF-5A-eGFP-3A, PCF-5A-eGFP-3C, PCF-5C-eGFP-3A, PCF-5C-eGFP-3C)を作出し、eGFP の蛍光強度をフローサイトメトリーで比較検討した。その結果、PCF-5A-eGFP-3A > PCF-5C-eGFP-3A > PCF-5A-eGFP-3C = PCF-5C-eGFP-3C の順に eGFP の蛍光強度が減少し、PCF-5A-eGFP-3C と PCF-5C-eGFP-3C での eGFP の蛍光強度は野生型 PCF (無蛍光) とほぼ同レベルであった。PCF では CESP 3'-UTR をもつ eGFP の発現が極めて低レベルであったこと、actin 由来 3'-UTR をもつ eGFP 遺伝子であっても CESP 由来 5'-UTR を用いると発現レベルが低下したこと、PCF における遺伝子発現調節には過去に報告された 3'-UTR とともに、5'-UTR も関与していることが示唆された。現在、PCF と同様の eGFP 発現コンストラクトを用いて遺伝子組換え EMF を作製中である。EMF では CESP UTR を有する eGFP の発現レベルが PCF とは逆に促進されるのではないかと期待しているが果たしてどのような結果が得られるであろうか？加えて、CESP UTR が PCF において eGFP 発現レベルを低下させた原因が、mRNA の分解促進によるのか、翻訳抑制によるのかについても解析していく予定である。本大会では CESP の分子性状と転写・翻訳制御に関してこれまでに得られたデータを紹介する。

寄生虫 1

皮膚型リーシュマニア症における FTA カードの PCR 診断への応用

○ 柁原ゆい¹、清田聡美²、池田勝義¹、大林光念^{1,3}、安東由喜雄^{1,3}、三森龍之⁴ (¹ 熊本大学医学部附属病院・中央検査部、² 広島県・福山臨床検査センター、³ 熊本大学大学院・生命科学研究部・病態情報解析学分野、⁴ 熊本大学大学院・生命科学研究部・医療技術科学講座)

【背景】リーシュマニア症は鞭毛虫類のリーシュマニア原虫によって起こる人畜共通感染症であり、原虫種により様々な症状を呈する。その臨床症状の違いにより大きく、皮膚型、皮膚粘膜型、内臓型に大きく分類される。リーシュマニア症の診断は病変部のギムザ染色塗抹標本をもちいた原虫の確認により行われるが、それぞれの種のリーシュマニア原虫の形態は類似しており、形態学的に種を同定することは困難であることから、免疫学的検査、さらには DNA を用いた遺伝子診断も行われている。近年、フィールドでの検査材料の採取および運搬でより簡便な濾紙採取法などが利用され、PCR に用いられるようになった。

【目的】培養したリーシュマニア原虫を試料とし、各希釈系列から作成した濾紙(FTA カード)を用いた PCR 法がリーシュマニア症の診断に有用であるかを検証する。

【方法】培養した *Leishmania (Leishmania) amazonensis* と *L. (Viannia) panamensis* の個体数を約 10、50、100、500、1000/2 μ l となるよう希釈し、それぞれを直径 2 mm の濾紙ディスク(Filter)内に塗布・乾燥させ DNA テンプレートとし、異なるリーシュマニア原虫検出用の代表的な 4 種類のプライマーに対して、何回再利用できるかについて調べた。

【結果】*L. (L.) amazonensis* においては、FTA 濾紙ディスクが 4 回まで繰り返し PCR のテンプレートとして利用できることが確認できた。cytrome プライマーを用いた PCR では非常にバンドが弱かった。*L. (V.) panamensis* においては、濾紙ディスクが少なくとも 3 回は PCR のテンプレートとして再利用可能であることが確認できた。3 回目でバンドの出現が不安定であったが、これは技術的な要因も含まれると考えられた。また、cytrome A プライマーによる PCR ではバンドが非常に弱かった。

【結語】各希釈系列から作製した濾紙(FTA カード)を用いた PCR 法がリーシュマニア症の診断に有用であることが確認されたが、詳細については一部改良の必要がある。

寄生虫 2

マウスモデルを用いた赤痢アメーバの病原性発現機構の解析

下川周子¹、小林正規²、千馬正敬³、加藤健太郎¹、大野民生⁴、○濱野真二郎^{1,5} (¹長崎大・熱研・寄生虫学、³病理学、⁵ Global COE Program、²慶應大・医・熱帯医学・寄生虫学、⁴名大院・医・支援センター・実験動物)

病原性アメーバ *Entamoeba histolytica* と非病原性アメーバ *E. dispar* および *E. moshkovskii* の炎症性サイトカインの発現誘導能を比較検討したので報告する。これらアメーバと腹腔渗出性マクロファージとを共培養したところ、病原性 *E. histolytica* では IL-6、TNF- α といった炎症性サイトカインの産生が誘導される一方、非病原性アメーバ *E. dispar* では誘導されなかった。一方、*E. moshkovskii* でも炎症性サイトカインの産生が誘導されたが、IL-6 の産生が極端に低く *E. histolytica* 認識時とは明らかに異なる産生パターンを示した。これらサイトカインの産生は MyD88 欠損マクロファージでは認められなかった。以上より、病原性 *E. histolytica* に加えて *E. moshkovskii* にも PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns) が存在し、これら PAMPs の認識には MyD88 の上流に位置する TLRs が関与することが示唆された。また、*E. moshkovskii* によって誘導される炎症性サイトカインの産生パターンが *E. histolytica* 認識時とは異なることより、アメーバ間で PAMPs の組成が異なることが示唆された。次いでアメーバのマウス腸管内定着能を調べたところ、病原性アメーバ *E. histolytica* と異なり、非病原性 *E. dispar* は CBA/J マウス腸管内に定着できなかった。一方、*E. moshkovskii* はマウス腸管に一定期間定着し激しい消化管症状を引き起こすことが判明した。今後は赤痢アメーバの PAMPs とそれに対応する TLRs を同定し、そのシグナルが赤痢アメーバ症の病態形成に果たす役割を解明したいと考えている。

寄生虫 3

コラーゲン関節炎に対する蠕虫感染の影響－*Heligmosomoides polygyrus* の場合－

○長田良雄、黒田悦史、金澤保（産業医科大・医・免疫学寄生虫学）

蠕虫感染は Th2 のみならず B-1, Treg, AAMφ など、種々の免疫調節性細胞を誘導し炎症性疾患やアレルギー疾患に抑制的影響を及ぼすことが知られている。その一方で、これと反対の結果を示す報告も散見される。我々は、マンソン住血吸虫感染がマウスの Th17 型炎症であるコラーゲン関節炎（CIA）を抑制することを示してきたが、腸管寄生線虫の関節炎への影響はほとんど検討されていない。*Heligmosomoides polygyrus* はマウスにおいて慢性感染をするが、その際に強力な Th2 応答および Treg 応答を惹起し、様々な実験的炎症・アレルギーに対し抑制作用を示すことが報告されている。今回、本寄生虫が CIA に及ぼす影響を検討した。

[方法] 雄性 DBA/1 マウスに、ウシ II 型コラーゲン（IIC）を CFA エマルジョンにて尾の基部に皮内免疫し、CIA を発症させた。免疫の前あるいは後に *H. polygyrus* の感染幼虫を 200 隻経口感染し、関節炎症状・血漿抗 IIC 抗体値・サイトカイン産生などへの影響を観察した。

[結果] *H. polygyrus* 感染は CIA の症状を抑制せず、むしろ増悪する傾向が観察された。感染群においては非感染群よりも早期（6～8 週）に症状が悪化したが、10 週目に至るとその差は縮小あるいは逆転した。血漿の抗 IIC-IgG 値は感染によって影響を受けなかった。10 週目の脾細胞サイトカイン産生では、IL-4 産生量の顕著な増加がみられたが、住血吸虫の場合のような顕著な IL-17 応答の低下は観察されなかった。IIC 免疫なしで感染のみを行ったマウスでは、関節炎の発症はみられなかった。

[考察] 蠕虫感染が必ずしも自己免疫性関節炎を抑制せず、むしろ増悪あるいは発症を促進する場合があることが示された。

寄生虫 4

Eimeria vermiformis 感染マウスでの toltrazuril 治療後の再感染抵抗性獲得要因の検討

○南野知也、宮里亜依、山口洋平、三堂祥吾、野中成晃、堀井洋一郎（宮崎大学農学部獣医学科獣医寄生虫病学研究室）

Eimeria 属によるコクシジウム症は、子牛に下痢や血便、発育遅延などを引き起こし、畜産現場においては重要な消化管寄生虫性疾患のひとつである。最近、全細胞内寄生期に作用する新規抗コクシジウム薬である toltrazuril（TZ）製剤の国内使用が開始されたが、投与方法などに統一見解がなく、現場で使用する際の指標となる基礎的データの集積が必要と思われる。

当研究室では、小腸寄生性 *E. vermiformis*（Ev）を使用し、TZ の治療特性を C57BL/6 マウスを用いて検討している。初感染 Ev 量が多い場合では、感染後 0～6 日のプレパテントピリオドに TZ 治療を行なうと、TZ 投与の時期に関わらず、再感染時に oocyst 排出量が減少し、十分な再感染抵抗性が認められた。一方、初感染量が少ない場合は、感染直後（0 日目）の TZ 投与後の再感染抵抗性が発現しにくいことが判明した。今回、細胞内寄生ステージの変化による寄生虫数の変化に着目し、Ev 低量感染マウスを用いて細胞内寄生ステージの異なる時期に TZ 投与を行い、再感染抵抗性発現との関連性を検討した。

各マウスに Ev 成熟 oocyst 30 個を感染させ、実験 1 では感染後 0、2、4、6 日目に TZ を投与した投与群と非投与群（コントロール）を作成した。両群とも初感染後 21 日目（oocyst 排出終了後 7 日目）に 300 個の oocyst を再感染させ、再感染後 9～11 日目の 3 日間の oocyst 排出量を調べた。実験 2 では 2・3・4 日目に TZ を投与し、同様に再感染を行なった。

実験 1、2 とともに、TZ は投与の時期にかかわらず Ev 初感染に対して著効を示し、TZ 投与群ではコントロール群に比べて著しい oocyst 排出量の減少が見られた。これに対して、再感染においては TZ 投与時期の違いにより抵抗性の獲得（再感染後のオーシスト排出量）に顕著な違いが生じた。実験 1 では 2 日目と 4 日目投与群の間で、実験 2 では 2 日目と 3 日目の間で有意な差が認められた。Ev 感染 2～3 日目は、初代シズントから数十倍に増えたメロゾイトが新たな細胞に侵入する時期に相当する。このことから、小腸上皮細胞に侵入する Ev の量の変化が再感染抵抗性獲得の重要な要因であることが示唆された。

寄生虫 5

マウスに寄生するコクシジウム、*Eimeria kriegsmanni* におけるオーシストの熱処理による殺滅効果

藤野隆志¹、薬師寺暁¹、○松尾智英²、松井利博¹ (1 杏林大学医学部感染症学講座寄生虫学分野、² 鹿児島大学農学部獣医獣医学科病態予防獣医学講座寄生虫病学分野)

Eimeria 属原虫は特に鶏において畜産学上問題となる寄生虫であるが、宿主特異性が高く、幅広い宿主にそれぞれ特異的に寄生する種が多く知られている。その中で *Eimeria kriegsmanni* はマウスに寄生するコクシジウム類で、重感染では死に至る病原性の高い種である一方で、齧歯類に寄生するコクシジウム類については未だ分類学的な異同問題も残されているという一面もある。そこで、実験動物として重要なマウスに寄生すること、また病原性の高い *Eimeria* 属原虫の実験モデルとして本種に注目して研究を行った。

コクシジウム類の感染予防のためにはオーシストの殺滅が不可欠であるが、既存の消毒剤では現実的な効果は期待できないのが現状であり、熱処理による殺滅が最も効果的であることが知られている。さらに、感染力の高い *Eimeria* 属原虫では少数のオーシストが生存していても感染が成立すること、加えて現場での実用性を考慮し、可能な限り低温・短時間での効果的な条件を知る必要がある。そのため、今回は本種および鶏寄生種としてよく知られている *E. tenella* と *E. maxima* の3種のスポロゾイト未形成および形成オーシストに対する熱処理による殺滅効果について調べた。その結果、60℃では処理時間によって生存するオーシストもみられたものの、70℃では全てのオーシストがごく短時間で殺滅できることが示された。

寄生虫 6

フタトゲチマダニロンギシン P4 のトキソプラズマに及ぼす影響

○田仲哲也¹、前田大輝¹、松尾智英²、Md. Morshedur Rahman¹、Boldbaatar Damdinsuren¹、白藤(梅宮)梨可¹、玄 学南³、辻 尚利⁴、藤崎幸蔵¹ (1 鹿児島大・農・新興感染症、² 寄生虫、³ 帯畜大・原虫研、⁴ 農研機構・動衛研)

マダニは病原微生物に対する防御機構として、非特異的に病原微生物を不活化する自然免疫が重要な役割を果たしていることが考えられる。自然免疫において主要な役割を担っている分子が抗菌性ペプチドであり、外来病原体の侵入を防ぐバリアーを形成している。抗菌性ペプチドの1つにディフェンシンがあり、フタトゲチマダニで同定された自然免疫関連分子ディフェンシン(ロンギシン)がバベシア原虫の増殖を抑制することがすでに報告されている。そこで、我々は、ロンギシンの抗バベシア活性ペプチド部位(ロンギシン P4)に注目し、経口感染によってヒトや動物で感染が成立するトキソプラズマ原虫に対するロンギシン P4 の及ぼす影響について検討した。

ロンギシン P4 をトキソプラズマ原虫タキゾイト浮遊液中に添加し、その虫体の生存率とマウス線維芽細胞への侵入率を未処置群や対象コントロールペプチドと比較した。

トキソプラズマ原虫タキゾイト浮遊液中にロンギシン P4 を添加すると、濃度依存的に虫体が凝集反応を示し、虫体の生存率が低下した。また、ロンギシン P4 で暴露された虫体のマウス 3T3 細胞への感染細胞率は、未処置群や対象コントロールペプチドでは 80%以上の虫体の感染率を示したが、ロンギシン P4 で虫体を処理すると濃度依存的に虫体の感染率は有意に低下した。従って、ロンギシン P4 はトキソプラズマタキゾイトの生存率を低下させ、虫体のマウス 3T3 細胞への侵入を顕著に阻害することが考えられた。さらに、fluorescent propidium iodide exclusion assay によって、ロンギシン P4 が虫体の膜に傷害性を与えている観察結果を得た。これらのメカニズムとして、ロンギシン P4 が虫体の膜へ結合し、虫体を凝集・傷害することが考えられた。本研究の知見は、マダニ由来分子がトキソプラズマ感染症制圧の治療薬として有望である可能性を示している。

寄生虫 7

ブタ回虫症血清診断用抗原候補分子のファージディスプレイ法を用いた網羅的検索

○吉田彩子¹、堀井洋一郎²、丸山治彦¹ (¹宮崎大・医・感染症学・寄生虫学、²宮崎大・農・獣医・獣医寄生虫病学)

ヒトにおけるブタ回虫症は幼虫が全身を移行して様々な病変を形成する「幼虫移行症」であり、患者血清中の抗寄生虫抗体を検出する免疫学的診断が非常に有効な診断方法である。しかしながら、近年は抗原材料となる虫体の採取が難しくなっており、診断用抗原の確保に大きな不安がある。さらに、虫体から抽出した粗抗原による抗体検出システムでは擬陽性と真の陽性の判定や虫種の特定が交差反応により困難であるという問題があり、質・量ともに安定した特異性の高い代替抗原の開発が急務となっている。

そこで、ブタ回虫症新規血清診断用抗原の探索を目的に、ブタ回虫の体内移行期に当たる肺移行期幼虫のcDNA T7ファージライブラリーを構築し、まずはライブラリーからイヌ回虫症患者血清抗体と結合するクローンを除いたのちに、ブタ回虫症患者血清抗体と結合するクローンをバイオパンニングにより選抜、濃縮した。次に、このパンニングの過程を3回行って得られた陽性ファージプールの中から502クローンを拾い、ファージELISAによりブタ回虫症患者血清と強い陽性反応を示す39クローンを選択した。

得られたクローンがコードしているブタ回虫遺伝子の配列を決定し、ファージが発現しているタンパク質分子を同定したところ、39クローン中4クローンが同一分子を発現しており、BLAST検索の結果から、これらのクローンがコードしている遺伝子配列はブタ回虫メス成虫卵巣cDNAライブラリーのEST配列と一致し、発現しているタンパク質分子のアミノ酸配列はマレー糸状虫のhypothetical proteinと高い相同性を持つ分子であった。さらに、ファージのインサート遺伝子の配列をもとに作成したプライマーを用いてブタ回虫肺移行期幼虫のtotal RNAからRT-PCRを行い、得られた増幅産物を大腸菌用の発現ベクターに組替えて、ブタ回虫由来の189アミノ酸をHis-tagとの融合タンパク質として作成した。この分子の診断抗原としての有用性については、今後検討を行う予定である。

寄生虫 8

幼虫移行症の診断における局所液の有用性

吉田彩子、長安英治、○丸山治彦 (宮崎大・医・感染症学・寄生虫学)

幼虫移行症はさまざまな病態を呈するが、代表的なものは、好酸球性肺炎、肝異常陰影、ぶどう膜炎、脊髄炎である。この中で、好酸球性肺炎と肝異常陰影は比較的濃厚な感染によって引き起こされると考えられる。末梢好酸球数も高値でありELISAによる血清診断は困難ではない。一方、ぶどう膜炎や脊髄炎の場合、好酸球増多が見られることは少なく、理由ははっきりしないが感染虫体数が少ないと考えられる。血清抗体濃度も好酸球性肺炎と比較すると明らかに低く、抗体陽性と症状のつながりがはっきりしないことが多い。

このような、血清診断にまつわる曖昧さを回避するひとつの方法は、感度と特異性に優れる検出系を開発することであり、複数の組換え抗原を組み合わせた抗体検査系は十分に開発する価値がある。しかしながら抗原の選択と有用性の検討には多くの労力と時間が必要であり、今現在の症例に対応することはできない。また、感染がぶどう膜や脊髄などの限局した部位のみでおこっている場合には、どんなに敏感な系であっても、血清中の抗体濃度が検出限界以下である可能性がある。

そこで、現行の血清診断システムでは、血清以外の体液、具体的には硝子体液や髄液を血清と同時に検査して抗体濃度を比較し、より確実な診断を目指している。本発表では、局所体液の検査が特に有効であった症例を紹介し、どのようなときに積極的に血清以外の検体を採取すべきかを考察する。

寄生虫 9

The effects of a long-lasting nematode, *Trichinella spiralis*, infection on serum paraoxonase-1 activity in rats

○Shogo Mido¹, Ayman Samir Farid^{1,2}, Nariaki Nonaka¹, Yuzaburo Oku³ and Yoichiro Horii¹ (¹ Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki • ² Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Benha University • ³ Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University)

It is well known that atherosclerosis is a serious health epidemic in developed countries, and its rising prevalence in developing nations suggests that it will become the leading cause of death in those developing countries by the end of next decade. We have previously shown that a short-lasting nematode, *Nippostrongylus brasiliensis*, infection decreased serum paraoxonase-1 (PON1) activity with atherogenic lipid modifications in rats. PON1 is a 355 amino acid glycoprotein, which is synthesized in the liver and secreted into the blood, where it associates with HDL and reduces the oxidative modifications of LDL which is the first step in atherosclerosis. Nonetheless, the effect(s) of chronic nematode infections on serum PON1 activities have not yet been studied. Therefore, we tried to study the effect of *Trichinella spiralis* infection on serum PON1 activity in male Wistar rats. We have found there is a significant reduction in serum PON1 activities starting from day 2 until week 7 PI with *T. spiralis*. We are currently trying to explore the potential role of nematode infections in immunopathogenesis of atherogenic processes.

寄生虫 10

中国・四国地方におけるイノシシ猟犬の肺吸虫感染状況

○入江隆夫、山口洋平、三堂祥吾、南野知也、郭志宏、野中成晃、堀井洋一郎（宮崎大学農学部獣医学科獣医寄生虫病学研究室）

日本に分布する肺吸虫のうち、人への感染が認められているのはウエステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫の2種である。ウエステルマン肺吸虫はかつて人を主たる終宿主とし南日本を中心に広く分布していたが、近年では疫学に関する報告は少なく、現在の分布状況には不明な点が多い。しかし、依然として感染例が散発していることから肺吸虫の生活環が維持されていることは明らかであり、加えて過去の分布報告とは異なる地域での症例も確認されているため、肺吸虫の分布が以前とは変化している可能性がある。

これまで本研究室では、ウエステルマン肺吸虫の待機宿主であるイノシシを摂食する機会の多いイノシシ猟犬に着目し調査を行ってきた。九州地方における疫学調査では、猟犬において高率に肺吸虫感染が認められる（抗体陽性率 65.6%）こと、およびその多くがウエステルマン肺吸虫による感染であることを明らかにしてきた。

そこで今回の調査では、九州地方と同様に、肺吸虫の生活環を維持するための宿主が生息する中国・四国地方を調査地とし、イノシシ猟犬における肺吸虫感染状況を調査した。感染の有無はウエステルマン肺吸虫抗原に対する特異抗体の検出により評価し、また虫卵検査により肺吸虫卵が入手できたものについては虫卵 DNA を解析して種の同定を行った。さらに、猟犬オーナーへの聞き取りをもとに、猟犬の背景（年齢、性別、イノシシ肉の給餌状況など）と感染との関係性を評価した。

その結果、中国・四国地方の猟犬でもウエステルマン肺吸虫に対する抗体陽性率が高い（49.6%, 147/224）ことが確認された。また、給餌や訓練などでイノシシの生肉を与えられている、もしくは猟の際に捕らえたイノシシの一部を捕食することがある猟犬の抗体陽性率は 57.0%（102/179）であり、生肉を摂食しない群（19.0%, 4/21）に対して有意に高いことが分かり、流行の背景に人為的要因が大きく関与していることが示唆された。虫卵 DNA 解析でウエステルマン肺吸虫の分布が確認されたことから、これらの地域においてもイノシシ肉を介した人への感染リスクに留意する必要があることが示された。

寄生虫 11

56歳の炭鉱跡地居住者に発症した播種性糞線虫症の1例

清水少一¹、長田良雄¹、○金澤 保¹、石井悠海²、長谷川英男²、後藤 慶³、新庄貴史⁴（¹産業医科大学医学部免疫学・寄生虫学、²大分大学医学部生物学、³産業医科大学病院感染制御部、⁴産業医科大学病院救急・集中治療部）

九州南部、南西諸島は濃厚な糞線虫症流行地として知られていたが、衛生環境の改善により昭和30年以降は患者数が激減し、現在では新たな感染者はないと考えられている。今回、われわれは昭和29年生まれの北九州の旧炭鉱地に居住していた男性にみられた播種性糞線虫症の1例を経験したので報告する。
症例：56歳の男性。北九州市内の旧炭鉱地周辺に生誕した後、同地で暮らし造園業を営んでいた。**既往歴：**2002年に糞線虫症といわれ治療したとのことであるが詳細は不明である。**現病歴：**2009年7月上旬より食思不振、便秘が出現し8月9日に近医を受診した。その際に好中球増多、CRP高値、CEA高値を指摘された。17日に症状が増悪し入院となった。腫瘍による腸閉塞を疑い治療を開始したが、ショックとなったため、24日に当院に緊急入院となった。**入院時所見：**意識レベルGCS E3V3M4、腹部膨満、腹壁硬、体温36.7℃、SpO₂ 100%(O₂5l/m経鼻吸入)、血圧98/60mmHg(ドパミン10γ) **入院時検査：**WBC11,400、CRP 21.27、エンドトキシン 38.9ng/ml、プロカルシトニン 10ng/ml 以上 **経過：**腹水中から糞線虫を認めたため播種性糞線虫症、それに由来するエンドトキシンショックと診断し、直ちに ivermectin および抗菌薬の投与が開始された。第2病日に ivermectin の直腸内投与、ガンマグロブリンの投与、第5病日には albendazole の投与を行った。しかしながら敗血症の改善見られず第6病日に死亡した。なお抗 HTLV-1 抗体が陽性であったが異型リンパ球は認めなかった。

患者は幼年時代に糞線虫に感染しその後発症時まで持続感染していたもので、HTLV-1 感染が発症の一因と考えられた。本症の疫学のおよび治療上の問題点について検討を加えた。

衛生動物 1

TOR 経路はフタトゲチマダニのビテロジェニン合成に必須である

○白藤（梅宮）梨可、Damdinsuren Boldbaatar、田仲哲也、藤崎幸蔵（鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野）

【背景】卵黄タンパク質前駆体（ビテロジェニン；Vg）の合成は、マダニの生殖・産卵行動において必須の過程であり、吸血によって誘導される。我々はこれまでに、RNA 干渉法（RNAi）を用いた遺伝子発現抑制により、翻訳開始因子 S6 キナーゼ（S6K）および *Vg* 遺伝子転写活性因子 GATA がフタトゲチマダニの Vg 合成において必須であることを明らかにした（Boldbaatar et al., 2010）。S6K は栄養シグナル経路である Target of rapamycin (TOR) 経路の中心的役割を担う TOR キナーゼの下流因子であることから、マダニの Vg 合成における TOR 経路の重要性が推測される。そこで、RNAi によるフタトゲチマダニ TOR 様遺伝子（*HITOR*）の発現抑制を行い、S6K、GATA、および Vg の発現解析を行うことにより、Vg 合成への影響を調べた。【材料と方法】フタトゲチマダニの雌成ダニに *HITOR* 2 本鎖 RNA を注入し、ウサギで吸血させた。対照群のマダニにはホタルルシフェラーゼ遺伝子を注入した。各群のマダニについて、吸血 4 日目、飽血、飽血後 5 日目（産卵前）、飽血後 14 日目（産卵中）に表現型の解析を行ったとともに、Vg 合成器官である脂肪体を回収し、RNA とタンパク質を抽出した。【結果】対照群および RNAi 群の飽血マダニの体重に有意差は認められなかったが、RNAi 群の飽血マダニの卵巣は、飽血後 2 週間を経過しても未成熟のままだった。RNAi 群の S6K および GATA 遺伝子発現は、吸血 4 日目以降に対照群とは異なるパターンを示した。また、RNAi 群の脂肪体においてリン酸化 S6K が検出されず、GATA タンパク質の発現も低下していた。【考察】これらのことから、マダニにおいて TOR は S6K の上流因子であることが判明したとともに、吸血によって TOR 経路が始動し、Vg が合成されると考えられた。

衛生動物 2

Simulium quinquestriatum とその近縁種の系統解析

○大塚靖、青木千春、高岡宏行（大分大学医学部感染予防医学講座）

ブユ属アシマダラブユ亜属の *striatum* 種グループは 19 種からなり、主に東洋区に分布している。このグループで日本に唯一分布している *Simulium quinquestriatum* は、グループの中では広域に分布している種である。2008 年 *S. quinquestriatum* の近縁種である *S. pingtungense* が台湾から新種として記載された。また、タイでも *S. quinquestriatum* と思われる標本が採集されているので、それら *S. quinquestriatum* とその近縁種の系統関係を明らかにするため、ミトコンドリアの 16S rRNA gene や COI などの塩基配列をもとに系統解析を行った。その結果、台湾産の *S. quinquestriatum* は日本産やタイ産と明らかに区別された。またタイ産のなかにもいくつか異なる種類があった。よって、*S. quinquestriatum* は台湾産の標本で原記載されているので、日本産やタイ産は別種として新たに記載する必要がある。その際、インド産で近縁種である *S. grisescens* との形態や遺伝子レベルでの比較が必要となってくる。

衛生動物 3

C6/36 細胞における Met 遺伝子の部分配列の決定

○倉重友和、佐藤朝光、福光由起、入江圭一、中島幸彦、鹿志毛信広、見明史雄（福岡大学薬学部微生物薬品化学）

蚊の防除において、殺虫剤は、最も有効なツールの一つである。しかし、蚊の殺虫剤抵抗性の発達に伴う効力の低下から、新しい殺虫剤の開発が急務となっている。以前、私達は、JNK に対する siRNA（JNK-siRNA）がヒトスジシマカの若齢幼虫の成長を抑制することから、殺虫剤として応用できる可能性を示した。しかし、蚊由来の JNK とヒト由来の JNK 間の塩基配列の相同性は高く、JNK-siRNA の実際の使用は、ヒトに有害な可能性がある。

今回、幼若ホルモンに代わり、pyriproxyfen を C6/36 細胞へ曝露し、JNK に対する影響をウエスタンブロットにより確認した。そして、pyriproxyfen は、濃度依存的に JNK のリン酸化を誘導することが示された。前述の有害性を克服するために、私達は、JNK の制御に関与する蚊に特異的な遺伝子として、幼若ホルモン受容体の候補の一つである Methoprene-tolerant (Met) に着目した。そして、pyriproxyfen による JNK の活性化が Met を介することを調べるために、続いて、C6/36 細胞の Met 遺伝子の塩基配列を決定した。ネッタイシマカ由来の Met 遺伝子の塩基配列よりプライマーを設計し、C6/36 細胞から抽出した mRNA に対する RT-PCR を行い、配列決定を行った。その結果、1943bp の Met 遺伝子の部分配列が得られた。この部分配列は、ネッタイシマカ由来の Met 遺伝子と高い相同性を示した。今後、pyriproxyfen の JNK 活性化が Met を介すること、そして、Met を標的とした siRNA の殺虫効力を評価していく予定である。

衛生動物 4

沖縄県の動物園で採集された蚊と吸血源動物

○當間孝子、宮城一郎、玉城美加子（琉球大学医学部保健学科国際保健学分野）

当教室では、琉球列島に生息する種々の蚊の吸血源動物を明らかにするために、いろいろな地域や環境の異なる場所で蚊の採集を行っている。今回は沖縄本島の中中部にある動物園で蚊を採集し、吸血蚊については、吸血源を明らかにしたので、その結果について報告する。

調査は 2008 年 3 月から 10 月にかけて、動物園内のキリン舎に BLB トラップを設置し、45 回行った。採集した蚊成虫は教室に持ち帰り、実体顕微鏡下で形態学的な特徴を用いて種の同定を行った。成虫の破損がひどく同定が出来ない *Culex vishnui* subgroup や *Anopheles sinensis* group の蚊は教室で開発したプライマーを用いて行った。また、吸血した個体は、アルコール保存し、DNA 分析による吸血源動物の同定を行った。調査の結果 9 属 16 種の 428 個体の蚊が捕獲され、雄は 176、雌は 252 であった。捕獲された種は *Anopheles sinensis*, *Malaya genurostris*, *Mimomyia luzonensis*, *Coquillettidia crassipes*, *Uranotaenia n. ryukyuana*, *Aedes albopictus*, *Ae. v. nipponii*, *Armigeres subalbatus*, *Lutzia vorax*, *Culex ryukyensis*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. bitaeniorhynchus*, *Cx. mimeticus*, *Cx. pseudovishnui*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui* であった。吸血蚊は 22 個体で、*Ae. v. nipponii* の吸血蚊からは哺乳類、*Ar. subalbatus* は哺乳類と鳥類、*Cx. quinquefasciatus* は鳥類、*Cx. tritaeniorhynchus* は哺乳類と鳥類、*Cx. vishnui* は鳥類の血液を同定した。

衛生動物 5

鹿児島県徳之島の蚊相と 9 新記録種

○宮城一郎、當間孝子、玉城美加子、万年耕輔（琉球大学医学部保健学科国際保健学分野）

2009 年 7 月 17 日－7 月 21 日、2010 年 5 月 19 日－22 日および同年 8 月 7 日－13 日、鹿児島県徳之島で蚊の調査を実施した。採集は携帯用 BL ライトトラップ、カエルコールトラップ、人囀採集、幼虫採集、オビトラップ採集で行った。

その結果、下記の 23 種を採集・同定した。内 9 種*は徳之島新記録種であった。

Anopheles bengalensis Puri*, *An. sinensis* Wiedemann, *Toxorhynchites m. yamadai* (Ouchi), *Topomyia yanbarensis* Miyagi*, *Malaya genurostris* Leicester, *Orthopodomyia anopheloides* (Giles), *Culex infantulus* Edwards*, *Cx. ryukyensis* Bohart, *Cx. hayashii ryukyuanus* Tanaka, Mizusawa and Saugstad, *Cx. quinquefasciatus* Say, *Lutzia vorax* Edwards, *Uranotaenia jacksoni* Edwards*, *Ur. nivipleura* Leicester*, *Ur. novobscura ryukyuana* Tanaka, Mizusawa and Saugstad, *Ur. macfarlanei* Edwards*, *Aedes albopictus* (Skuse), *Ae. riversi* Bohart and Ingram, *Ae. flavopictus downsi* Bohart and Ingram*, *Ae. watasei* Yamada, *Ae. japonicus amamiensis* Tanaka, Mizusawa and Saugstad, *Armigeres subalbatus* (Coquillett), *Heizmannia kana* Tanaka, Mizusawa and Saugstad*, *Coquillettidia crassipes* (Van der Wulp)*. なお、徳之島からはこれまでに上記以外に 7 種が記録されており (Toma and Miyagi, 1986)、現在徳之島の蚊相は 30 種からなる。これらの蚊は奄美大島と全て共通種である。

衛生動物 6

Functional analysis of class B scavenger receptor CD36 from the hard tick, *Haemaphysalis longicornis*

○Kyaw Min Aung, Damdinsuren Boldbaatar, Rika Umemiya-Shirafuji, Tetsuya Tanaka, Kozo Fujisaki (Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Department of Frontier Veterinary Medicine, Kagoshima University)

The class B scavenger receptor CD36 (*SRB*) is considered microbial surface constituents, intact microbes, and important in innate immunity. We here showed that mRNA transcripts were expressed in multiple organs but different transcript level in developmental stages of *H. longicornis* by RT-PCR. Silencing of the *HISRB* gene by RNAi led to a significant reduction in the engorged female body weight. Green fluorescent protein (GFP) *E.coli* was observed in unfed ticks, gradually decreased in partially fed ticks and masses of *E.coli* in *SRB* knockdown ticks after 24 hours injection. In immunofluorescent antibody test (IFAT), *HISRB* antiserum recognized the protein located on PBS, *S. aureus*, and *E.coli* injection of partially fed *H. longicornis*. Interestingly, more than a dozen *SRB* have been identified with functions related to pheromone signaling, innate immunity, phagocytic clearance of apoptotic cells, and lipid metabolism. This is the first report of the functional analysis of *SRB* homologue in Chelicerata, including ticks, horseshoe crabs, scorpions, spiders and mites.

衛生動物 7

フタトゲチマダニにおけるオートファジー関連遺伝子 *HLATG6* 発現抑制の産卵への影響

○川野 優、白藤 (梅宮) 梨可、Damdinsuren Boldbaatar、田仲 哲也、藤崎 幸蔵 (鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野)

細胞が自己の一部を隔離・分解する生物学的プロセスであるオートファジーについて、マダニ体内における機能と役割を解析する目的で、我々は、これまでに、フタトゲチマダニから4つのオートファジー関連 (*ATG*) 遺伝子ホモログの特性を明らかにしたが、今回、新たに *ATG6* の相同遺伝子を単離・同定した。*ATG6* は、オートファジーの重要過程であるオートファゴソーム形成に必須であり、酵母では液胞酵素の輸送に必要であり、線虫ではエンドサイトーシスにも関与することが知られている。

フタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis ATG6 (HLATG6)* cDNA の ORF は 1,395 bp、推定産物は 464 アミノ酸からなり、推定分子量は 53.0 kDa であった。RNA 干渉法を用いて、雌成ダニに対する *HLATG6* のノックダウンを行ったところ、吸血3日目から *HLATG6* の発現抑制が認められた。剖検した飽血後4日目の卵巣は、対照群が茶色を呈するのに対し、*HLATG6* ノックダウンマダニは白～薄茶色であった。また産卵は正常には行われず、産卵数の有意な低下が認められた。*HLATG6* ノックダウンマダニでは、調べた卵黄タンパク質 (vitellogenin; Vg) の遺伝子発現に低下も認められず、ヘモリンフは Vg に特有の茶色を呈していたことから、ヘモリンフから卵母細胞への Vg 移行が、*HLATG6* ノックダウンマダニでは遮断された可能性が強く推測された。

以上のことから、*HLATG6* は、ヘモリンフ中に分泌された Vg が、卵形成のために卵母細胞に取り込まれるエンドサイトーシス過程において、重要な役割を果たしていることが明らかになった。

衛生動物 8

フタトゲチマダニにおけるセリン/スレオニンキナーゼ Akt の発現及び機能解析

○田中 徹、白藤 (梅宮) 梨可、Damdinsuren Boldbaatar、田仲哲也、藤崎幸蔵 (鹿児島大学農学部獣医学科先端獣医科学講座新興感染症学分野)

マダニが宿主から吸血する際、その細胞や組織は急激な成長、増殖をみせるが、その詳細な分子基盤は不明である。そこで我々は、細胞の増殖や成長に重要な役割を果たしているシグナル伝達経路であり、多くの生物種で進化的に保存された PI3K/Akt 経路に着目した。今回、我々はフタトゲチマダニの発育胚 cDNA ライブラリーからセリン/スレオニンキナーゼ Akt (PKB) の相同遺伝子を分離した。*Haemaphysalis longicornis Akt* cDNA (*HLAkt*) の ORF は 1,590 bp、推定産物は 529 アミノ酸から成り、推定分子量は 60.5 kDa であった。*HLAkt* は、他の生物種の Akt と同様に PH ドメイン、セリン/スレオニンキナーゼドメイン及び疎水性モチーフを持ち、推定二重リン酸化残基である Thr338 と Ser503 を有していた。RT-PCR による発現解析では、*HLAkt* は全ての発育期 (卵、幼ダニ、若ダニ、成ダニ) において普遍的に発現していることが明らかになった。また、RNA 干渉法を用いて *HLAkt* 遺伝子をノックダウンした成ダニの全体及び各臓器における mRNA、タンパクレベルでの発現解析を RT-PCR、ウエスタンブロット法を用いて吸血日数別に行い、*HLAkt* 2 本鎖 RNA 接種成ダニでは吸血1日目から *HLAkt* の発現が抑制されることが確認された。さらに、*HLAkt* ノックダウン成ダニでは、顕著な飽血阻害が明らかであり、マダニの吸血完了に必要な単一あるいは複数の機能の発現において、*HLAkt* は重要な役割を果たしていることが示唆された。現在、マダニの生理機能に重要な複数の分子が *HLAkt* のノックダウンによってどのように変化したか解析するとともに、若ダニから成ダニへの変態における *HLAkt* の役割について研究を進めている。

農学部案内図

交通機関

- 市営バス
 - ⑨・⑪・⑳番線
 - 鹿大正門前 徒歩1分
- 市電
 - 工学部前電停から徒歩5分
 - 騎射場電停から徒歩10分
- JR郡元駅から徒歩10分
- JR鹿児島中央駅から車5分
- JR鹿児島中央駅から徒歩20分



農学部講義室・研究棟 配置図

