



第 61 回
日本寄生虫学会・日本衛生動物学会
北日本支部合同大会プログラム・講演要旨集



Proceedings of the 61th Joint Annual Meeting of Northern Branch of the Japanese Society of Parasitology and the Japan Society of Medical Entomology and Zoology



October 10, 2015
Obihiro, Hokkaido, Japan

会期:平成 27 年 10 月 10 日(土)
会場:帯広畜産大学 原虫病研究センター PK ホール

**第 61 回 日本寄生虫学会・日本衛生動物学会
北日本支部合同大会 概要**

大会長: 猪熊 壽 (帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門 教授)

会 期: 2015 年 10 月 10 日(土)

会 場: 帯広畜産大学 原虫病研究センター PK ホール

日 程 : 8:45 受付開始

9:20 開会の辞

9:30 一般演題

12:15 休憩・昼食, 幹事会・理事会

13:45 公開講演会: 前田 健 先生 (山口大学共同獣医学部教授 (獣医微生物学))

「SFTS が北日本で発生する可能性は? -最新の知見から-」

15:00 一般演題

17:20 総会

17:50 閉会の辞

18:20 情報交換会: 帯広畜産大学構内生協

会費 : 当日受付にてお支払いください。

一般 2,000 円, 学生 1,000 円 情報交換会費:一般 3,000 円, 学生 2,000 円

発表形式: 発表時間は講演 10 分, 質疑応答 5 分の 15 分です。Power Point (Windows 版)を用いた液晶プロジェクターによる発表のみとします。発表ファイルは USB メモリーに保存し, 当日お持ち下さい。なお, 会場でのウイルスチェックは行いませんので, メモリーは各自必ずウイルスチェックを行ったうえご持参ください。

座長: 第 60 回に引き続き, 衛生動物学会大会の方式に則り, 前発表者が次の方の講演の座長を行う方式とします。ご協力をお願いいたします。

事務局・連絡先 :

帯広畜産大学 原虫病研究センター 河津信一郎

〒080-8555 帯広市稲田町西 2 線 11

TEL 0155-49-5846 (直通) skawazu@obihiro.ac.jp

※ 本大会は参加費で運営されます。経費節減のため, 恐れ入りますが本プログラム・講演要旨集を印刷してご持参頂きますようお願いいたします。また, 当日の服装は軽装・普段着でご参加ください。

会場案内図



プログラム

9:20~9:30 開会の辞

大会長: 猪熊 壽 (帯広畜産大学)

9:30~10:45

衛生動物

1. ヒトの生活空間内で見出された野生小哺乳類の二例について

Two cases of wild small mammals found inside residence areas.

○浅川満彦 (酪農大・獣・感染/病理)

2. ベトナム国家農業大学獣医寄生虫学講座の概要について

Overview of Department of Veterinary Parasitology, Vietnam National University of Agriculture.

○Duong Duc Hieu (Vietnam Nat Univ Agr)

3. 牛乳頭腫症の発生における双翅目昆虫の関与と媒介種について—2年間の調査結果—

Participation of dipterous insects and search for vector in outbreak of teat papillomatosis in cattle.

○岩佐光啓, 紫藤夢野 (帯広畜産大・昆虫)

4. 北海道におけるダイセツヤブカの追加記録

Additional records of *Ochlerotatus impiger* from Hokkaido.

○伊東 拓也 (北海道立衛生研究所)

5. エゾリスおよびその寄生ノミのバルトネラ属細菌の保有状況調査

Survey of *Bartonella* spp. infection on Hokkaido Squirrel (*Sciurus vulgaris orientis*) and fleas infesting *S. vulgaris orientis*.

○松本 高太郎, 田仲 真之, 池川 晃世, 猪熊 壽 (帯畜大・臨床獣医学研究部門)

(休憩 15 分間 10:45~11:00)

11:00~12:15

寄生虫 1

6. *Trypanosoma congolense* EMF ステージ特異的 RNA 結合タンパク質 TcRBP6 の機能解析

Molecular characterization of an EMF stage specific RNA binding protein, *T. congolense* RBP6.

○菅沼啓輔¹, Marcin Jalalski², 山岸潤也³, 山崎詩乃¹, 河津信一郎¹, 井上 昇¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² ミュンスター大学, ³ 北大・人獣研)

7. *Trypanosoma congolense* EMF におけるヘモグロビン取込みタンパク質 TcEpHbR の機能解析

Characterization of a hemoglobin receptor (TcEpHbR) in *T. congolense* EMF.

○山崎詩乃, 菅沼啓輔, 河津信一郎, 横山直明, 井上 昇 (帯畜大・原虫病研究センター)

8. ザンビアにおけるウシおよびヤギのトリパノソーマ病およびピロプラズマ病流行状況調査

A PCR based survey of animal African trypanosomiasis and selected piroplasm parasites of cattle and goats in Zambia.

○ムシングズィ ピーター, 菅沼啓輔, 加藤里美, 井上 昇 (帯畜大・原虫病研究センター)

9. 新規動物トリパノソーマ症治療薬の探索

Development of new control measures against animal trypanosomes.

○モレフェ ンタティスイ, 菅沼啓輔, 井上 昇 (帯畜大・原虫病研究センター)

10. カクテル抗原 ELISA を用いた日本住血吸虫症診断法の確立

Use of cocktail-antigen ELISA for the diagnosis of zoonotic schistosomiasis in multiple host species.

○Kharleezelle J. Moendeg¹, Jose Ma. M. Angeles¹, 後藤康之², Lydia R. Leonardo⁴, 桐木雅史³, Elena A. Villacorte⁴, Pilarita T. Rivera⁴, 井上 昇¹, 千草雄一³, 河津信一郎¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² 東大・応用免疫, ³ 獨協医科大・熱帯病寄生虫病, ⁴ フィリピン大学マニラ校・公衆衛生学部)

12:15～13:45

休憩・昼食, 幹事会・理事会

※ 大学生協食堂が営業 (AM11:00-13:30) をしておりますのでご利用下さい。

13:45～14:45

公開講演会

「SFTS が北日本で発生する可能性は？-最新の知見から-」

前田 健 (山口大学共同獣医学部教授 (獣医微生物学))

(休憩 15 分間 14:45～15:00)

15:00～16:15

寄生虫 2

11. ケニアのウシから分離されたバベシア, アナプラズマおよびタイレリア原虫の分子解析

Molecular characterization of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale*, *Theileria parva* and *Theileria orientalis* isolated from cattle in Kenya.

○Paul Franck Adjou Moumouni^{1,2}, Gabriel Oluga Aboge¹, 白藤-梅宮梨可¹ 鈴木宏志^{1,2}, 玄 学南¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² 岐阜連大・獣医学研究科)

12. タイ北部および北東部の肉牛におけるバベシアおよびタイレリア感染のリスクファクター解析

Molecular analysis of risk factors associated with *Babesia* spp. and *T. orientalis* infections in beef cattle from northern and northeastern Thailand.

○Jirapattharasate C^{1,2}, Moumouni PFA², Vudriko P², 鈴木宏志¹, 玄学南¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² 岐阜連大・獣医学研究科)

13. バングラデシュのウシおよびスイギュウから分離された *Explanatum explanatum* (Creplin, 1847) の分子系統解析

Molecular phylogeny of *Explanatum explanatum* (Creplin, 1847) from cattle and buffaloes in Bangladesh.

○Uday Kumar Mohanta, 板垣 匡 (岩手大・農・獣医寄生虫)

14. 1958 年以来 57 年ぶりの北海道における糞線虫症例

Strongyloides stercoralis infection in a patient who lives in Hokkaido without history of emigration from epidemic area.

○太田 圭¹, 大橋 功², 長安 英治³, 日野明紀菜³, 丸山 治彦³ (¹ 小清水赤十字病院・総合診療科, ² 小清水赤十字病院・臨床検査課, ³ 宮崎大学・寄生虫学)

15. 北海道在来両生類の寄生蠕虫：エゾサンショウウオの膀胱に寄生する *Phyllodistomum kanae* の生活史

Helminths of Hokkaido-endemic amphibians: the life cycle of *Phyllodistomum kanae*, a bladder fluke from the Ezo salamander.

○中尾 稔 (旭川医大)

(休憩 15 分間 16:15~16:30)

16:30~17:15

寄生虫 3

16. 多包虫は宿主の補体活性を阻害する—多包虫セリンプロテアーゼインヒビターのはたらき—

Echinococcus multilocularis evades host complement system: the function of *E. multilocularis* serinprotease inhibitor family.

○佐々木瑞希, 迫 康仁 (旭川医大)

17. *Echinococcus multilocularis* (larval stage) ミトコンドリアのフマル酸呼吸を薬剤標的とした新規薬剤開発

Novel drug development approach targeting fumarate respiration in larval-stage mitochondria of *Echinococcus multilocularis*.

○ 遠海重裕¹, 稲岡健タニエル¹, 大森惇子¹, 坂元君年², 入江 隆夫³, 孝口裕一³, 八木欣平³, 齋本 博之⁴, 北 潔¹ (¹ 東大院・医・生物医化学, ² 弘前大・農生・分生, ³ 北海道衛研・衛生動物, ⁴ 鳥取大院・工・化学・生物応用工)

18. ミトコンドリア酵素 Trypanosome alternative oxidase を薬剤標的とした抗トリパノソーマ薬アスコフラノンおよびその誘導体の *Trypanosoma brucei brucei* 感染マウスにおける治療効果

In vivo efficacy of a trypanocidal compound, ascofranone, and its derivatives on *Trypanosoma brucei brucei* in mice.

柘植千明¹, 城戸康年¹, 斎本博之², 菅沼啓介³, 井上 昇³, 〇北 潔¹ (¹ 東大院・医・生物医化学, ² 鳥取大院・工・化学・生物応用工, ³ 帯畜大・原虫病研究センター)

17:20~17:50

総会

17:50~18:00

閉会の辞

大会長: 猪熊 壽 (帯広畜産大学)

18:20~

情報交換会

帯広畜産大学構内生協

公開講演会

「SFTSが北日本で発生する可能性は？-最新の知見から-」

○前田 健（山口大学共同獣医学部・獣医微生物学）

Will SFTS occur in Northern part of Japan? Maeda, K.

SFTS の国内での発見から 3 年が経ち、様々な知見が見出されてきた。

- 1) 2005 年には国内で患者の発生があった。
- 2) 国内の分離株は中国の分離株とは異なる。
- 3) 患者の発生は西日本だけである。
- 4) 患者の発生時期はダニの発生時期と一致している。
- 5) 50 歳以上の高齢者が重症化する。
- 6) マダニが主な伝播経路である。
- 7) 未だ国内では致死率 30%である。

以上のことから、以前より西日本に SFTSV が存在しており、原因不明として処理されていた疾患の一部が、SFTS として診断できるようになった、と考えられている。致死率は非常に高い感染症ではあるが、マダニの刺咬に注意することで予防できる。以上が、一般的な考えとなっている。

今回は、我々が得た研究成果をもとに、例外かもしれないが幾つかの可能性を紹介したい。

- 1) 中国株に近いウイルスが国内に侵入している。
→大陸から直接侵入する可能性？
- 2) 一部の地域では確実に感染が拡大している。
→国内で広がりつつある可能性？
- 3) 動物の排泄物・体液にウイルスが存在する。
→ダニ以外の感染経路の可能性？
- 4) 動物で感染率が高い地域でも狩猟者は感染していなかった。
→患者が発生していない地域でも動物間では広がっている可能性？

以上の知見を紹介しながら、「SFTSが北日本で発生する可能性」について考察したい。

1 ヒトの生活空間内で見出された野生小哺乳類の二例について

○浅川満彦 (酪農大・獣・感染/病理) Two cases of wild small mammals found inside residence areas. Asakawa, M.

一般に衛生動物とはヒトの衛生的な生活に悪影響を与える動物の総称とされる。そして、代表的な哺乳類の衛生動物としてはハツカネズミ、クマネズミおよびドブネズミなどのいわゆる住家性鼠類がこのカテゴリーに含まれ、衛生動物学は施設侵入・食品混入防止のため様々な対応の基礎・応用の研究が展開している。しかし、最近、演者らはタイリクヤチネズミ *Myodes rufocanus* とエゾトガリネズミ *Sorex caecutiens* がヒトの生活空間に侵入した事例を経験した。なお、前事例は浅川 (2014) で既報告済みだが、後者は未発表なので、簡単に記述する。当該事例は2014年12月、北海道Y市に所在するある元高等学校の校舎をホテルとして改装された施設内で、エゾトガリネズミ 1 個体の新鮮な死体が見つかったものであった。今回は、これら二つの事例を紹介しつつ、新たな衛生動物の対象種として付け加えるべきなのかどうかを検討したい。【文献】浅川満彦(2014)札幌市内店舗商品運搬用の箱内で発見されたエゾヤチネズミ。森林保護, (336): 31-21.

2 ベトナム国家農業大学獣医寄生虫学講座の概要について

○Duong Duc Hieu (Vietnam Nat Univ Agr) Overview of Department of Veterinary Parasitology, Vietnam National University of Agriculture. Duong Duc Hieu.

Department of Parasitology of Vietnam National University of Agriculture has several missions: To advance our knowledge of veterinary parasitology, To provide diagnostic support and science based consulting to practicing veterinarians and industry partners, To help ensure continued advancement in protecting and caring for companion animals and livestock with industry partners, To provide applied graduate and residency training to increase the number of trained veterinary parasitologists available to serve the veterinary profession. All of the domestic animal, avian but not wildlife taught in the DVM program harbor parasites. Our research interests include the immunology and control of *Fasciola gigantica*, STH, parasitic zoonosis diseases, protozoan diseases, haemoparasites and also the molecular parasitology and its application for developing diagnosis kit and vaccine including purification and characterization of recombinant protein from oocyst of *Eimeria*, study on tick and tick-borne diseases in cattle and dogs in Northern Vietnam, collaboration with WCS (Wildlife Conservation Society) for diagnosing haemoparasites and intestinal parasites in wild animals.

牛乳頭腫症の発生における双翅目昆虫の関与と媒介種について—2年間の調査結果—

3

○岩佐光啓, 紫藤夢野 (帯広畜産大・昆虫) Participation of dipterous insects and search for vector in outbreak of teat papillomatosis in cattle. Iwasa, M., and Shido, Y.

近年発生が拡大している牛乳頭腫症の感染経路には不明な点が多い。本症の発生拡大における双翅目昆虫の関与と媒介種について明らかにすることを目的に帯広畜産大付属農場にて2013, 2014年の2年間調査した。放牧地における蚊帳トラップ法によって、5科31種13,069個体の双翅目昆虫が採集され、そのうちアオキツメトゲブユが9,752個体で最も優占し、次いでエゾヒメアシマダラブユ、シナノヌカカの順だった。放牧牛の乳房からは、見つけ採り法によって5科27種8,565個体の双翅目昆虫が採集され、アオキツメトゲブユ、ノサシバエ、エゾヒメアシマダラブユおよびツメトゲブユが優占した。放牧牛の飼育場所の違いにおける1乳頭あたりの平均吸血痕数は、放牧地の育成牛のほうがパドックの育成牛よりも多かった。放牧中の育成牛の平均吸血痕数と放牧地でのアオキツメトゲブユの発生数の間に正の相関がみられた。育成牛の乳頭の平均吸血痕数は、後側2本よりも前側2本に多く、乳頭腫症の発症も前側2本に多くなり、吸血痕数の多い部位と乳頭腫症の発症の多い部位が一致した。乳頭腫の月平均発生率は、調査頭数全体では58.73%で、育成牛では69.85%と高く、特に2013年5月(80.56%)、4月(78.38%)、9月(75.56%)、2014年5月(87.80%)、2014年4月(86.84%)で高かった。アオキツメトゲブユの発生数の多い時期とその数か月後の乳頭腫症の発生率の高さに関連性が示唆され、本種が、乳頭腫症の媒介に関して最も重要な種である可能性が示唆された。

北海道におけるダイセツヤブカの追加記録

4

○伊東 拓也 (北海道立衛生研究所) Additional records of *Ochlerotatus impiger* from Hokkaido. Ito, T.

ダイセツヤブカ *Ochlerotatus impiger* は、日本では1970年5-6月に北海道大雪山勇駒別で採集された幼虫並びにそれらの飼育・羽化成虫により初めて記録され(田中 和夫, 1972)、同標本を用いて亜種 *O. impiger daisetsuzanus* が記載された(Tanaka et al. 1979)。その後本種の採集記録は皆無で、佐藤正三氏らの道内全域に及ぶ蚊相調査結果においてもその名を見ない。

演者は2009年5月東川町勇駒別の旭岳温泉近くの標高1100mにある水たまりで本種幼虫を採集し、飼育羽化成虫約50個体ほどを得た。採集場所は、標高等から初記録地点と同じか極めて近くの水たまりであると考えられた。なお、ヒサゴヌマヤブカの初記録地点である東川町瓢箪沼(標高920m)や勇駒別の標高750m地点では、本種を採集できなかった。これらのことは、本種が日本では大雪山の高標高に限って生息する希少種である(Tanaka et al. 1979)ことを支持していた。ところが、2014年5月、宗谷管内猿払村豊里の道路脇の水たまり(標高48m)にて本種幼虫5個体を採集し、うち1匹が羽化した。さらに2015年4月、石狩市厚田区聚富(標高5m)の海岸線近くの水たまりで幼虫2個体を採集した(幼虫で死亡)。猿払村・石狩市の両採集地点とも2015年5月に再訪したが、追加個体を得ることはできなかった。

得られた幼虫標本は、主要な刺毛配列及び comb scales の形態が互いに良く一致したが、採集された環境は大きく異なっており、さらに石狩海岸線は古くから蚊類調査が行われている地域であるにも関わらず本種は今まで得られていなかった。本種の動向について、今後の推移や他地点の状況等をさらに把握する必要があると考えられた。

5 エゾリスおよびその寄生ノミのバルトネラ属細菌の保有状況調査

○松本 高太郎, 田仲 真之, 池川 晃世, 猪熊 壽 (帯畜大・臨床獣医学研究部門) Survey of *Bartonella* spp. infection on Hokkaido Squirrel (*Sciurus vulgaris orientis*) and fleas infesting *S. vulgaris orientis*.
Matsumoto, K., Tanaka, M., Ikegawa, A., and Inokuma, H.

【背景と目的】バルトネラ属細菌は人獣共通感染症の病原体であり、ノミやマダニが媒介すると考えられている。一方、エゾリスは北海道において、最も人に身近な野生動物の1つであり、多数のノミに寄生されていることがわかっている。そこで、エゾリスとその寄生ノミについて、バルトネラ属細菌の保有状況の調査を行った。【材料と方法】シャーメントラップにより捕獲されたエゾリス、および交通事故により回収されたエゾリス死体から、血液、血餅、脾臓、および寄生ノミを採取した。これらの検体からDNAを抽出した後、バルトネラ属の *rpoB* 遺伝子を標的としたPCRを実施した。また、一部のノミ検体から、XTC-2細胞を用いてバルトネラ属細菌の分離を試みた。【結果と考察】エゾリス26個体およびノミ156匹を採取し、PCRに用いた。ノミの内訳は、*Monopsyllus* 属ノミ110匹、*Aenigmopsylla grodekovi* 45匹、*Ctenophthalmus* 属ノミ1匹であった。PCRを行った結果、エゾリスの血液(0/19)および脾臓(0/5)は全て陰性だったが、ノミでは7.1%(11/156)が陽性を示した。陽性を示したノミは全て *Monopsyllus* 属であった。さらに、エゾリス5個体からノミ22匹を採取し、分離に用いたところ、1検体で短桿菌が得られた。16SrRNA 遺伝子の配列は、*Bartonella washoensis* と99.9%一致した(1341/1342)。本調査の結果から、エゾリスに寄生している *Monopsyllus* 属ノミがバルトネラ属細菌を保有しており、それが *B. washoensis* である可能性が示された。しかしながら、寄生ノミが陽性を示したエゾリスからは、バルトネラ属細菌は検出されず、バルトネラ属細菌の保有宿主としてのエゾリスの役割は不明であった。

6 *Trypanosoma congolense* EMF ステージ特異的 RNA 結合タンパク質 TcRBP6 の機能解析

○菅沼啓輔¹, Marcin Jalalski², 山岸潤也³, 山崎詩乃¹, 河津信一郎¹, 井上 昇¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² ミュンスター大学, ³ 北大・人獣研) Molecular characterization of an EMF stage specific RNA binding protein, *T. congolense* RBP6. Suganuma, K., Jalalski, M., Yamagishi, J., Yamasaki, S., Kawazu, S. and Inoue, N.

アフリカトリパノソーマ発育ステージ特異的遺伝子群の発現は、mRNAの3'側非翻訳領域(3'UTR)と、そこに結合する少数のRNA結合タンパク質群(RBPs)で形成されるRNA-RBPs複合体によって、転写後段階で制御されている。RBPの中でも *Trypanosoma brucei* RBP6 (TbRBP6) はプロサイクリック型虫体(PCF)からエピマスティゴート型虫体(EMF)への発育ステージ変換に重要であると報告されている(Kolev N. G. *et al.*, 2012)。そこで本研究ではTbRBP6オルソログ *T. congolense* RBP6 (TcRBP6)のEMFへの発育ステージ変換に及ぼす影響を明らかにするため、TcRBP6の発現動態とRNA結合能の解析を行った。まずウエスタンブロット法でTcRBP6の発現動態を解析した結果、EMF特異的にTcRBP6の発現量が増大していることが明らかになった。また間接蛍光抗体法で細胞内局在を解析した結果、EMFの細胞質に局在していることが明らかとなった。さらにRNA免疫沈降法でTcRBP6-RNA複合体を精製した結果、陰性コントロールと比較して有意に多いRNAが精製された。以上の結果からTcRBP6は結合したmRNAの時期特異的翻訳に関与していると考えられる。今後はTcRBP6に結合するRNAモチーフの探索を行う予定である。

7 *Trypanosoma congolense* EMF におけるヘモグロビン取込みタンパク質 TcEpHbR の機能解析

○山崎詩乃, 菅沼啓輔, 河津信一郎, 横山直明, 井上 昇 (帯畜大・原虫病研究センター) Characterization of a hemoglobin receptor (TcEpHbR) in *T. congolense* EMF. Yamasaki S., Suganuma K., Kawazu S., Yokoyama N. and Inoue N.

アフリカトリパノソーマは真核生物に広く保存されているヘム生合成経路を欠損している。そのため生存に必要なヘムは宿主からの取込みに依存しているが、その機構に関する知見は乏しく、特にツェツェバエ体内でのヘム取込み機構は不明である。本研究では *Trypanosoma congolense* (Tc) のツェツェバエ体内ステージであるエピマスティゴート型(EMF)におけるヘム取込みタンパク質として、遊離型ヘモグロビン(Hb)レセプターである TcEpHbR を同定し、その発現解析及び機能解析を行った。ウェスタンブロット法及び間接蛍光抗体法の結果、TcEpHbR は EMF 特異的に発現し、細胞膜及び鞭毛基部に局在していた。また表面プラズモン共鳴法により TcEpHbR は遊離型 Hb と特異的に結合した。さらに Tc 全発育ステージ原虫を用いて蛍光標識 Hb の取込み解析を行い、Tc が遊離型 Hb を取込むのは EMF のみであることを明らかにした。以上の結果から、TcEpHbR は Tc EMF における遊離型 Hb レセプターであると結論づけた。また抗 TcEpHbR モノクローナル抗体(mAb)を作製し、mAb 添加によって EMF に細胞変性が引き起こされる現象を確認した。今後は mAb による EMF 細胞変性の原因を探るとともに、EMF におけるヘモグロビンの取込み・代謝機構を明らかにしていく予定である。

8 ザンビアにおけるウシおよびヤギのトリパノソーマ病およびピロプラズマ病流行状況調査

○ムシングズィ ピーター, 菅沼啓輔, 加藤里美, 井上 昇(帯畜大・原虫病研究センター) A PCR based survey of animal African trypanosomosis and selected piroplasm parasites of cattle and goats in Zambia. Musinguzi, S. P., Suganuma, K., Kato, S. and Inoue, N.

We screened 472 cattle and 53 goats in Zambia for the presence of African trypanosomes (*Trypanozoon*, *T. congolense* and *T. vivax*), *Babesia bigemina* and *Theileria parva* using PCR assays from the districts of Chama, Monze and Mumbwa. 39.4% of the samples tested positive for at least one of the parasite species. *T. vivax* (19.8%) was the commonest and significantly higher in goats than cattle, (p value <0.05). *B. bigemina* was found in samples from all the three areas making it the most wide spread of the parasites. 10.6% of the positive samples were mixed infections. According to the areas sampled, there were significant differences in the *T. vivax* infection rates (p value <0.0001) with Mumbwa having a significantly higher infection rate of 39.6%, *Th. parva* (p value <0.0004) with Monze having the only cases and *B. bigemina* (p value <0.0001) with Monze having a significantly higher infection rate of 40.5% and no trypanosome infections. There was significantly lower PCV% among the cattle with mixed infections compared to the others. The presence of mixed infections among the cattle and goat populations is of both clinical and economic importance to livestock farming. The absence of trypanosomosis among the samples collected from Monze shows that vector control can cause a significant difference in the disease status which can directly translate to improvement of the livestock sector. Therefore country wide parasitic disease prevention and control programs need to be instituted to improve the livestock sector in Zambia.

新規動物トリパノソーマ症治療薬の探索

9

○モレフェンタテイスイ, 菅沼啓輔, 井上 昇 (帯畜大・原虫病研究センター) Development of new control measures against animal trypanosomes. Molefe, N. I., Suganuma K., and Inoue, N.

Animal trypanosomosis is a parasitic disease causing serious economic losses in the livestock reproduction, affecting a number of countries in Africa and Asia. The treatment of trypanosomosis is based on a few, toxic and expensive compounds that were discovered many years ago. New, accessible and less toxic drugs are urgently needed. The current study is aiming at testing various compounds for the trypanocidal effects on *T. congolense*, *T. b. brucei* and *T. evansi*. This study was initiated with the *in vitro* testing of 8 compounds, artesunate, pepstatin A, melatonin, triclosan, nerolidol, azithromycin, 2-hexadecenoic acid and curcumin on the trypanosomes. Artesunate, triclosan, nerolidol, azithromycin and curcumin showed some trypanocidal effects on *T. congolense* with the IC₅₀ (mean in µg/ml ± S.D) of 10.67±6.50, 1.93±0.86, 2.07±0.41, 0.19±0.17 and 1.36±0.31, respectively. The IC₅₀ values for trypanocidal effects of these compounds on *T. b. brucei* and *T. evansi* were obtained as well. Cytotoxicity effects were tested on the MDBK and NIH 3T3 cells. Artesunate was toxic on both the MDBK and NIH 3T3 cells with the IC₅₀ (mean in µg/ml ± S.D) of 0.86±0.15 and 0.05±0.08, respectively. Azithromycin showed no toxicity on both the cells with an IC₅₀ of >25 µg/ml and calculated selectivity index values of >125. From the current study thus far has shown azithromycin as a possible compound for the treatment of trypanosomes, however, further tests such as the transmission electron microscope examination of treated parasites to analyze the mechanicals of trypanocidal activity as well as the *in vivo* tests using mice are needed. Triclosan, nerolidol and curcumin will also be studied for further tests.

カクテル抗原 ELISA を用いた日本住血吸虫症診断法の確立

10

○Kharleezelle J. Moendeg¹, Jose Ma. M. Angeles¹, 後藤康之², Lydia R. Leonardo⁴, 桐木雅史³, Elena A. Villacorte⁴, Pilarita T. Rivera⁴, 井上 昇¹, 千草雄一³, 河津信一郎¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² 東大・応用免疫, ³ 獨協医科大・熱帯病寄生虫病, ⁴ フィリピン大学マニラ校・公衆衛生学部) Use of cocktail-antigen ELISA for the diagnosis of zoonotic schistosomiasis in multiple host species, Kharleezelle J. Moendeg, Jose Ma. M. Angeles, Goto, Y., Lydia R. Leonardo, Kirinoki, M., Elena A. Villacorte, Pilarita T. Rivera, Inoue, N., Chigusa, Y. and Kawazu, S.

The zoonotic nature of *Schistosoma japonicum* suggests the need in developing a unified surveillance in multiple host species to strengthen schistosomiasis control. Among the animal reservoir hosts, water buffaloes and dogs were considered to be important in the transmission of schistosome infection to humans. Previous studies showed that recombinant antigens like thioredoxin peroxidase-1 (SjTPx-1) and tandem repeat proteins (Sj1TR, Sj7TR) were good diagnostic antigens in humans, water buffaloes and dogs. The present study aimed to test the diagnostic potentials of different combinations of these recombinant antigens in a cocktail-ELISA using samples from the three host species obtained from endemic areas in the Philippines. Compared with the individual diagnostic potential calculated for each of the three recombinant antigens used, their combination showed improved specificities, positive predictive values and kappa values. Cocktail-ELISA with the combination of SjTPx-1/Sj7TR/Sj1TR has the highest sensitivity in humans (84.1%), dogs and water buffaloes (80%) and specificity (100%) in all host species. The results of this study indicate the potential of cocktail-ELISA in improving the zoonotic surveillance of schistosomiasis in multiple host species.

11 ケニアのウシから分離されたバベシア、アナプラズマおよびタイレリア原虫の分子解析

○Paul Franck Adjou Moumouni^{1,2}, Gabriel Oluga Aboge¹, 白藤-梅宮梨可¹ 鈴木宏志^{1,2}, 玄 学南¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² 岐阜連大・獣医学研究科) Molecular characterization of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale*, *Theileria parva* and *Theileria orientalis* isolated from cattle in Kenya. Adjou Moumouni, P.F., Aboge, G.O., Shirafuji-Umemiya, R., Suzuki, H., and Xuan, X.

The molecular characterization of tick-borne pathogens provides valuable epidemiologic information required for the design of diagnostic and disease prevention tools. Unfortunately, data on tick-borne pathogens in Africa are scant. In this study we aimed to analyze the sequences of *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale*, *T. parva* and *T. orientalis* isolated from cattle in Kenya. The pathogens were detected in two separate farms located in Ngong and Machakos districts. In each farm, three samples positive for *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale*, *T. parva*, or *T. orientalis* were randomly selected, amplified, cloned and sequenced for genetic characterization of *B. bovis* spherical body protein 4, *B. bigemina* rhoptry associated protein 1a, *A. marginale* major surface protein 5, *T. parva* p104 and *T. orientalis* major piroplasm surface protein (MPSP) genes. *Babesia* parasites and *A. marginale* sequences were conserved while *T. parva* and *T. orientalis* were polymorphic. Cattle-derived *T. parva* was detected in Machakos farm; however cattle and buffalo-derived *Theileria* were detected in Ngong farm suggesting interactions between cattle and wild buffalos. The *T. orientalis* identified were classified as MPSP Type 3 and MPSP Type 5. Generally, the tick-borne pathogens detected in Kenya were genetically related to the other African isolates and distant from isolates of other continents. The current findings shade a light on the genetic diversity of tick-borne pathogens in Kenya and reaffirm the need to include wildlife in disease control strategies.

12 タイ北部および北東部の肉牛におけるバベシアおよびタイレリア感染のリスクファクター解析

○Jirapattharasate C^{1,2}, Moumouni PFA², Vudriko P², 鈴木宏志¹, 玄学南¹ (¹ 帯畜大・原虫病研究センター, ² 岐阜連大・獣医学研究科) Molecular analysis of risk factors associated with *Babesia* spp. and *T. orientalis* infections in beef cattle from northern and northeastern Thailand. Jirapattharasate, C., Moumouni, PFA., Vudriko, P., Suzuki, H., and Xuan, X.

The objective of this study was to evaluate the risk factors associated with Babesiosis and theileriosis at farm level for identifying effective prevention and control strategies against these diseases in Thailand. A total of 329 blood samples were randomly collected from beef cattle in 6 provinces from northern and northeastern part. All samples were detected for *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *Theileria orientalis* using PCR methods. Animals were grouped based on PCR results and categorized as positive or negative for the parasite infection. Exposure variables were analyzed to determine the risk factors associated with the occurrences of the above parasites. Multivariable logistic regression analysis revealed a strong association between the occurrence of babesiosis and previous history of tick infestation (OR=4.9, CI= 1.3-18.9), cattle sampled from large herd size (OR=3.2, CI=1.5-7.2), communal grazing (OR=3.0, CI=1.1-7.5) and lack of tick control program (OR=2.6, CI=1.2-5.2). The multivariable analysis showed the lack of tick control was the major risk factor (OR=3.8, CI=1.9-7.6) for *T. orientalis*. In conclusion, lack of tick control program was a universal risk factor of the occurrence of *Babesia* spp. and *T. orientalis* infection in beef cattle in northern and northeastern Thailand. Therefore, improvement of farm management practices and routine tick control would reduce the prevalence of TBDs in Thailand.

13 バングラデシュのウシおよびスイギュウから分離された *Explanatum explanatum* (Creplin, 1847) の分子系統解析

○Uday Kumar Mohanta, 板垣 匡 (岩手大・農・獣医寄生虫) Molecular phylogeny of *Explanatum explanatum* (Creplin, 1847) from cattle and buffaloes in Bangladesh. Kumar, U.M., and Itagaki, T.

Explanatum explanatum amphistomes inhabit bile ducts of domestic ruminants causing severe liver damage through intense destruction to the epithelium, and induce gnanulomatous nodules infiltrated by numerous inflammatory cells. Huge numbers of flukes were collected from the bile ducts of cattle and buffaloes in the slaughter houses of four different agro-ecological areas of Bangladesh, namely, Bogra, Khulna, Sylhet and Mymensingh. Unfortunately, molecular properties of *E. explanatum* from Bangladesh still remain unclear. Therefore, the aim of this study was to unravel the molecular properties of *E. explanatum* by analyzing ITS2 sequences as well as *nad1* gene sequences, and also to infer their phylogenetic relations. Among the collected flukes, 2 flukes from 33 animals (7 cattle and 26 buffaloes; n=66) were subjected for molecular studies. The ITS2 sequences yielded 2 haplotypes where 64 flukes were identical to ITS2 sequences deposited in the GenBank while only 2 flukes had one nucleotide substitution. The flukes from Bangladesh were thus identified precisely as *E. explanatum* by their identity in ITS2 region to those in the GenBank. On the other hand, *nad1* gene sequences of 66 flukes constituted 30 haplotypes. In the reduced median network, all the halpotypes, irrespective of the host involved and localities of sampling, were distributed from the two founder haplogroups. This hyper-variability (1-6%) of *E. explanatum* flukes in *nad1* gene prompted us to analyze *nad1* gene sequences of the flukes from other neighboring countries, which may further contribute to better understand the phylogenetic relationships of *E. explanatum* from Bangladesh to those from other countries and also to other amphistomes.

14 1958 年以来 57 年ぶりの北海道における糞線虫症例

○太田 圭¹, 大橋 功², 長安 英治³, 日野明紀菜³, 丸山 治彦³ (1) 小清水赤十字病院・総合診療科, (2) 小清水赤十字病院・臨床検査課, (3) 宮崎大学・寄生虫学) A case report of *Strongyloides stercoralis* infection in a patient who lives in Hokkaido without history of emigration from epidemic area. Ota K., Ohashi I., Nagayasu E., Hino A., and Maruyama H.

糞線虫症は流行地からの移住者や外国人を除き九州より北では報告例がないが、北海道外での居住歴、海外渡航歴が一切ない極めてまれな 70 歳代女性の糞線虫症を経験した。

症例は道東在住で両親も北海道出身者。脳出血後遺症の定期診察を行っていたが、保清が不十分なため頻回に下肢に湿疹を生じ、搔抓により感染を合併して四肢、体幹および顔面に皮膚炎が拡大したため入院加療を行った。

入院時尿沈渣にて糞線虫を疑う虫体が多数観察され、糞便からも認めた。宮崎大での血清診断は陰性であり、糞便を送付して遺伝子検査を行い確定診断に至った。また HTLV-1 抗体陽性であった。皮膚生検では ATL による皮膚浸潤や寄生虫症に関連する好酸球浸潤は認めなかった。イベルメクチン 12 mg を 1 週間毎に 2 回内服させ駆虫した。経過中に消化器症状は全くなかった。

1958 年の佐々らによる道在住者の糞線虫症 3 例は、いずれも道外での居住歴があった。2014 年に吉川らは 00-13 年の本邦症例報告 80 例を検討して、国内感染例はほぼすべて九州以南の出身者であると結論付けている。本例も居住歴や家族歴を詳細に聴取したが、流行地との関連はなかった。さらに九州、南西諸島とは異なる遺伝子型であることが判明しており、北海道士着の糞線虫症である可能性が示唆された。

15 北海道在来両生類の寄生蠕虫：エゾサンショウウオの膀胱に寄生する *Phyllodistomum kanae* の生活史

○中尾 稔（旭川医大） Helminths of Hokkaido-endemic amphibians: the life cycle of *Phyllodistomum kanae*, a bladder fluke from the Ezo salamander. Nakao, M.

寄生虫の宿主転換に関する進化生態学モデルを構築するため、旭川周辺で北海道在来ならびに外来両生類の寄生虫相を調査している。現在までのところ、吸虫類では消化管や肺に寄生する種類は発見されておらず、膀胱から2種類が記録されている。すなわち、エゾアカガエルからの *Polystoma* sp. (Monogenea: Polystomatidae) とエゾサンショウウオからの *Phyllodistomum* sp. (Digenea: Gorgoderidae) である。どちらも宿主特異性に関しては厳格なスペシャリストで、交差感染例（宿主転換）は全くない。後者の吸虫は最近 *Phyllodistomum kanae* として新種記載した。今回、スペシャリスト成立の要因を探るため、*P. kanae* の生活史の解明を試みた。この吸虫は比布町の溪流沿いの水たまりで捕獲したエゾサンショウウオ成体から始めて発見された。ここにはハイイロマメシジミが生息し、*P. kanae* の第一中間宿主となっていた。水生昆虫を第二中間宿主と想定して、水たまりに生息するトンボ・トビケラ・センブリなどの幼虫を調査したが、全て陰性だった。ところが、同所性のサンショウウオ幼生の皮膚と腎臓から *P. kanae* のメタセルカリアを高率に検出できた。この発見から *P. kanae* の生活環として、1) マメシジミ→サンショウウオ（幼生・成体）、2) マメシジミ→サンショウウオ幼生→サンショウウオ成体、の二つの仮説が考えられた。1の場合は、サンショウウオ幼生の皮膚や腎臓に寄生虫が潜み、幼生が上陸して膀胱が発達すると寄生虫は膀胱へ移動して成虫になるという経路である。2の場合は、寄生虫に感染したサンショウウオ幼生が上陸した際に別のサンショウウオ成体に共食いされて捕食者の膀胱で成虫になるという経路である。飼育実験で確認しなければならないが、いずれにしても大変ユニークな生活環で宿主特異性が保たれているらしい。

16 多包虫は宿主の補体活性を阻害する—多包虫セリンプロテアーゼインヒビターのはたらき—

○佐々木瑞希, 迫 康仁（旭川医大） *Echinococcus multilocularis* evades host complement system: the function of *E. multilocularis* serinprotease inhibitor family. Sasaki M. and Sako Y.

多包虫は宿主の補体系による細胞傷害を回避して増殖するというが（Ferreira *et al.* 2000）、そのメカニズムは不明である。補体系には古典経路、代替経路およびレクチン経路の3つの経路がある。まずは多包虫がこれら3つのうちのどの経路を阻害するか、補体活性測定キットを用いて調べた。

正常ヒト血清に多包虫分泌タンパク質を加えて反応させたのち補体活性を測定すると、正常血清のみの時と比較して代替経路とレクチン経路のMAC産生量が30%以下にまで低下した。この寄生虫が宿主の補体活性を阻害する能力を持つというのはどうやら本当らしい。あとはゲルろ過クロマトグラフィーにより得られた分画から阻害活性をもつ分子を探していく。

その前にもういちど補体経路を眺めてみると、セリンプロテアーゼファミリー分子の登場頻度が高いことに気付く。多包虫がセリンプロテアーゼインヒビター（serpin）をもち、それを使って補体活性を阻害しているのではないか。

多包虫のゲノムおよびトランスクリプトームデータが公開されているため、これを利用して多包虫 serpin 分子を探索した。すると、報告済みの serpinEmu (Merckelbach *et al.* 2003) に加え、新たな2つの serpin ファミリー分子を発見した。これらの性状、局在等について解析を行っている。

17 *Echinococcus multilocularis* (larval stage) ミトコンドリアのフマル酸呼吸を薬剤標的とした新規
薬剤開発

○遠海重裕¹, 稲岡健ダニエル¹, 大森惇子¹, 坂元君年², 入江 隆夫³, 孝口裕一³, 八木欣平³, 齋本博之⁴, 北 潔¹ (1) 東大院・医・生物医化学, (2) 弘前大・農生・分生, (3) 北海道衛研・衛生動物, (4) 鳥取大院・工・化学・生物応用工) Novel drug development approach targeting fumarate respiration in larval-stage mitochondria of *Echinococcus multilocularis*. Enkai, S., Inaola, D.K., Oomori, J., Sakamoto, K., Irie, T., Kouguchi, Y., Yagi, K., Saiki, H., and Kita, K.

我々は *Ascaris suum* (*A. s*) や *Echinococcus multilocularis* (*E. m*)において低酸素環境下で複合体Iと複合体IIから構成される NADH-フマル酸還元系(NADH-FRD)が作動し, ここでは複合体IIは哺乳類を含めた好気性生物のコハク酸酸化の逆反応であるキノール-フマル酸還元酵素 (QFR) として機能し, 新規駆虫薬のターゲットとなることを明らかにしてきた. さらに複合体Iの阻害剤である quinazoline が培養系において *E. multilocularis* の幼虫を殺滅することを示した. そこで次のステップとして *E. multilocularis* の NADH-FRD の末端酵素である複合体II(EmQFR)を特異的に阻害し, エキノコックス症の治療に有望なリード化合物のスクリーニングを試みた. 当研究室で構築中のキノン結合部位阻害剤のライブラリーを用いて幼虫ミトコンドリアの EmQFR に対する阻害効果を検討したところ, Ferulenol 及び Ascofuranone(AF)が EmQFR を特異的に阻害する事を見出した. 特に AF は EmQFR に対しては IC₅₀ が 1.1 μ M で, ブタ SQR に対しては 250 μ M と約 227 倍の高い選択性を示した. そこで AF 誘導体の計 125 種類を用いて EmQFR に対する構造活性相関解析を行い, 阻害に必須な置換基を調べた. その結果, IC₅₀ が 0.1 μ M 前後で EmQFR を阻害し, 選択性が 2,300 倍を示す AF 誘導体を複数見出した. さらにスクリーニングを進める中で, EmQFR を IC₅₀ 690 nM で阻害する新たなキノン結合部位阻害剤を見出した. これらの AF 誘導体と新規化合物は *E. multilocularis* の培養系でも強い殺滅効果がある事が判った. さらに *in vivo*での効果を確認するために感染治療実験を行った. AF の単独投与ではシスト形成の軽減は認められなかった. しかし, シスト形成を確認した BALB/c マウスに対して AF と新規化合物との併用及び新規化合物単独の投与を 8 週間行ったところ未治療のコントロール群と比較して治療群ではシストの形成が認められなかった. この新規化合物を基軸とし AF 誘導体や既存の駆虫薬と併用することで新しい薬剤治療の道が開けると考えられる.

ミトコンドリア酵素 *Trypanosome alternative oxidase* を薬剤標的とした抗トリパノソーマ薬アスコフランオンおよびその誘導体の *Trypanosoma brucei brucei* 感染マウスにおける治療効果

柘植千明¹, 城戸康年¹, 齋本博之², 菅沼啓介³, 井上 昇³, 〇北 潔¹ (1) 東大院・医・生物医化学, 2) 鳥取大院・工・化学・生物応用工, 3) 帯畜大・原虫病研究センター) *In vivo* efficacy of a trypanocidal compound, ascofranone, and its derivatives on *Trypanosoma brucei brucei* in mice. Tsuge, C., Kido, Y., Saiki, H., Suganuma, K., Inoue, N., and Kita, K.

アフリカトリパノソーマ症は *Trypanosoma brucei* の感染によって引き起こされ、治療しなければ 100%死に至る寄生虫感染症である。アフリカトリパノソーマ症に有効な薬剤は現在数種類しか実用化されておらず、それらは深刻な副作用を引き起こし、さらに耐性株が出現している。したがって、副作用のない効果的な薬の開発が急務である。

宿主体内におけるトリパノソーマ血流型のエネルギー産生は、主に解糖系に依存しており、この代謝系において重要な役割を担っているのが、*Trypanosome alternative oxidase* (TAO) である。TAO はミトコンドリアに存在する末端酸化酵素であり、トリパノソーマの生存に必要不可欠かつ宿主であるほ乳動物には存在しないため、理想的な薬剤標的と考えられてきた。

我々はこの TAO 活性を非常に低濃度で阻害する *Ascofuranone* (AF) を見出し、その誘導体群と大腸菌に発現させた組換え TAO, および *in vitro* 培養系を用いた実験により、構造活性相関を明らかとしてきた。新規薬剤開発には *in vivo* 感染動物モデルにおける効果の検証が必須である。そこで本研究では、次のステップとして AF および誘導体の感染マウスにおける治療効果を解析した。

Balb/c マウスに *T. b. brucei* を感染させ、AF および誘導体の懸濁液を 1 日 1 回腹腔内投与しそれらの治療効果を検討した。断尾により回収した微量血液を用いて光学顕微鏡で血中の原虫の有無を観察し、投与終了後 60 日間血液中に原虫が確認されなかったものを完治とした。AF およびその誘導体による *T. b. brucei* 感染マウスにおける治療効果を検討した結果、それらの中で少なくとも 4 種類の化合物が顕著な副作用を示さず感染マウスを完治させた。また多くの AF 誘導体は *T. congolense* にも有効であった。以上の結果より、これら AF とその誘導体は極めて有望な新規抗トリパノソーマ薬候補であると考えられる。