

師会研修会、和歌山、10月。

- 3) Sakai K, Shigeta A, Fukui K, Maebashi K, Abe S, Murata S, Takatsu A. An analysis of autopsy cases related to alleged medical malpractice. 20th Congress of International Academy of Legal Medicine. Budapest, Aug. [Abstract book 2006; 316]
- 4) 酒井健太郎, 重田聡男, 福井謙二, 前橋恭子, 阿部俊太郎, 村田須美枝, 高津光洋. 当教室で取り扱った診療行為に関連した死亡の調査研究. 第90次日本法医学会総会. 福岡, 4月. [日法医誌 2006; 60: 42]
- 5) 前橋恭子, 高津光洋, 重田聡男, 福井謙二, 阿部俊太郎, 酒井健太郎, 村田須美枝. 東京慈恵会医科大学法医学講座における中毒死剖検例の統計的検討. 第90次日本法医学会総会. 福岡, 4月. [日法医誌 2006; 60: 89]
- 6) 井上 顕<sup>1)</sup>, 那谷雅之<sup>1)</sup>, 福永龍繁(都観察医務院), 阿部俊太郎, 西村幸香<sup>1)</sup>, 谷井久志<sup>1)</sup>, 岡崎祐士<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>三重大). 自殺予防に対する検討 三重県における自殺調査より. 第90次日本法医学会総会. 福岡, 4月. [日法医誌 2006; 60: 42]
- 7) 井上 顕<sup>1)</sup>, 谷井久志<sup>1)</sup>, 阿部俊太郎, 那谷雅之<sup>1)</sup>, 朝日林太郎<sup>1)</sup>, 瀧田麻衣子<sup>1)</sup>, 西村房枝<sup>2)</sup>, 木村友伎子<sup>2)</sup>(<sup>2</sup>金沢大), 西村幸香<sup>1)</sup>, 西田淳志<sup>1)</sup>, 梶木直美<sup>1)</sup>, 岡崎祐士<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>三重大), 福永龍繁(都監察医務院). 三重県における自殺と環境の関連についての検討. 第49回日本神経化学学会大会. 名古屋, 9月. [神経化学 2006; 45: 406]

#### IV. 著 書

- 1) 高津光洋. 外科看護を取り巻く法的環境. 青木照明, 小路美喜子編. 系統看護学講座別巻1: 臨床外科看護総論. 東京: 医学書院, 2006. p. 228-54.
- 2) 高津光洋. 救急医療に関する法律. 五十嵐隆, 花岡一雄, 山本保博編. 実践 救急医療 (日本医師会生涯教育シリーズ). 東京: 日本医師会, 2006. p. 380-3.
- 3) 高津光洋. 突然死: 内因性急死. 高津光洋, 石津日出雄編. 標準法医学・医事法. 第6版. 東京: 医学書院, 2006. p. 75-95.
- 4) 高津光洋. 機械的損傷. 高津光洋, 石津日出雄編. 標準法医学・医事法. 第6版. 東京: 医学書院, 2006. p. 104-143.
- 5) 高津光洋. 窒息. 高津光洋, 石津日出雄編. 標準法医学・医事法. 第6版. 東京: 医学書院, 2006. p. 181-205.

#### V. その他

- 1) Takatsu A, Noguchi TT. Preface (Special Section: Forensic Pathology: New concepts and technologies). Legal Med 2007; 9(2): 70.

## 熱帯医学講座

教授: 渡辺 直熙 寄生虫感染とIgE  
 助教授: 牧岡 朝夫 原虫の分子生物学  
 講師: 熊谷 正広 臨床寄生虫学  
 講師: 石渡 賢治 寄生虫感染と粘膜免疫

### 研究概要

#### I. マラリアとマスト細胞

マラリアは対策が最も急がれる原虫感染症である。血管内で増殖するマラリア原虫に対する免疫応答が病態を形成し、T細胞による制御のもとにTNFや抗体がその担い手と考えられてきた。われわれは血管周囲に多いマスト細胞がマラリアの病態発現の中心であるとする新たな仮説をたて、実験によって検証してきた。本年度はマスト細胞を活性化させる分子について検討した。マスト細胞の活性化のための表面受容体として、獲得免疫ではIgE受容体、自然免疫では toll-like receptor (TLR) 4がある。IgE受容体を介する活性化にはIgE抗体が必要で、さらにIgE抗体を誘導する抗原が要る。ネズミマラリア感染マウスでは抗マラリア原虫IgE抗体の産生がみられ、その抗原として Peroxiredoxin (Prx)が同定された。次にリコンビナントPrxを作成しTLR4を介した活性化を検討した。Prxはマスト細胞上TLR4に結合してTNFを遊離させた。またPrxによるTLR4への刺激に介合分子CD14やMD-2, 細胞内伝達分子MyD88が関与することが示された。さらにTLR4とPrxとの結合による沈降体を得て分析したところ両者の直接の結合が確認された。TLR4は多糖体を認識することで知られるが、今回蛋白質であるマラリア原虫Prxを認識することが判明した。この知見はTLR4と蛋白質による自然免疫の発現という新たな概念を導いた。

#### II. 消化管寄生虫と免疫応答

消化管寄生虫は腸管内容物の流れや腸蠕動に逆らって定着するためにエネルギーを必要とする。一方、宿主の免疫機構は寄生虫を殺滅することなく、その定着を阻害するだけで排除する。今回、寄生の動態と寄生虫のエネルギー量との関連を検討した。好氣的にエネルギー代謝を行うネズミの消化管寄生線虫 *Nippostrongylus brasiliensis* の細胞内ATP量を化学発光量として測定することで寄生虫のエネルギー量とし、虫体の定着期および排除期のラット小腸各部位より回収した *N. brasiliensis* 間で比較し

た。その結果、本来の寄生部位である小腸上部粘膜より回収した *N. brasiliensis* の ATP 量は、他の部位より回収したそれよりも有意に高値を示し、非好適寄生部位でのエネルギー代謝の低下が認められた。定着期においても非好適寄生部位より回収される *N. brasiliensis* の ATP 量は低値を示した。低 ATP 量の *N. brasiliensis* を小腸上部に移入すると ATP 量の回復が認められ、また低酸素状態での短時間培養で ATP 量は低下した。これらのことから、*N. brasiliensis* はエネルギー代謝系を損なうことなく寄生部位を変え、腸管腔内環境に応じたエネルギー代謝を行っていることが示唆された。

小形条虫の虫卵感染に対するマウスの再感染防御においては、初感染から再感染までの期間が数日間の場合、再感染虫体の小腸粘膜組織への侵入が阻止される。一方、再感染までの期間を3週間以上に長くすると、再感染虫体は一度粘膜組織に侵入し、そこで防御が発現することが示唆された。組織内虫体の排除に抗体の関与がないことから、腸管組織固有の新たな排除機構の存在が考えられる。

### III. アメーバの脱嚢と発育の機序

アメーバのヒトへの感染型である成熟嚢子は経口摂取され小腸で脱嚢する前に、胃液および腸液に曝される。この過程が脱嚢・発育に与える影響は明らかではない。そこで、赤痢アメーバの脱嚢・発育のモデルとなる *Entamoeba invadens* の *in vitro* 脱嚢系を用いて、人工胃液、人工腸液の効果を検討した。人工胃液として 0.5% pepsin/0.6% HCl (pH 1.8) を、人工腸液として 1% pancreatin/1% sodium bicarbonate/5% ox bile (pH 8.0) を用いた。嚢子を人工胃液で 37°C、30 分あるいは 60 分前処理すると、脱嚢した虫体数の増加が認められたが、26°C の前処理では効果がなかった。前処理時間が長いほど嚢子の生存率が低下した。37°C の蒸留水による前処理でも、有意な脱嚢促進効果がみられた。さらに、0.6% HCl のみでも人工胃液と同様な促進効果があった。脱嚢後の発育は、人工胃液の前処理により、わずかに促進した。一方、人工腸液は嚢子に対して細胞毒性を示した。これは人工腸液中の ox bile によることが判明した。以上の結果から、胃液 (37°C) がアメーバの脱嚢を促進していることが示唆された。

### IV. SELDI-TOF MS ProteinChip システムによるアメーバ分離株のタンパク質解析

SELDI-TOF MS (surface enhanced laser

desorption ionization time of flight mass spectrometry) ProteinChip システムはタンパク質解析に適した化学的性質を持つ ProteinChip と測定 Reader および解析ソフトで構成され、ProteinChip に対する親和性を利用して試料から目的タンパク質を捕捉し、その質量を測定できる。この方法は Chip 上で簡便に構成タンパク質の質量の分布を解析ができ、少量の試料から短時間に結果を得ることができる利点を有する。今回、赤痢アメーバの 10 分離株および *Entamoeba dispar* の 2 分離株を用い、種間および株間の共通性と相違点を解析した。弱陽イオン交換体の CM10 ProteinChip を用い、2% CHAPS 可溶性上清を試料とした。まず、赤痢アメーバ HM-1 株 (標準株) の別々の培養から得られた試料について解析したところ、結果の再現性を確認できた。次に、この標準株と他の分離株とを比較した結果、その違いがタンパク質のピーク・パターンの違いとして認められた。また、赤痢アメーバと *E. dispar* の種間の違いも明らかになった。以上の結果から、このシステムはアメーバ分離株のタンパク質構成の解析および疫学研究に有用であることが示唆された。

#### 「点検・評価」

研究では、文部科学省 5 件、厚生労働省 1 件の補助金を受けたことで研究費は問題ない。研究内容は従来からの課題が継続しとくに新たなものはない。研究は独創と継続とが基本で、宿主寄生体関係の理解に向けた新しい概念を生み出すことが目標となる。各自の研究について、方向性とその意義を改めて考え確認することが求められる。その過程では真摯で多面的な議論が必要である。根底にある生物学を見据えたくて、より普遍的な知見に到達すべく思考を巡らすことが大切である。一方、研究成果をまとめて論文として発表する努力も欠かせない。

教育では、ユニット「感染と寄生虫」の講義は学生から高く評価された。寄生虫感染症の特徴を学生に興味をもって伝えることができたのであれば嬉しい。講義は教員から学生への一方向の教育ではあるが、要点の見分け方を寄生虫症を通して学び、自学自習のための基礎を提供できるようにしたい。また寄生虫症の疾患としての理解にとどまらず、その背景となる自然や社会にも目を向けることで社会人としての視野を培うことが重要である。実習は毎年改善に努めているが、講義ほどの良い評価は得られていない。できる限り寄生虫の実物を用いることで感性を通して学習できるように工夫を重ねている。

加えて実習の場での教員と学生とのコミュニケーションも重視している。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Watanabe N, Tomimori Y<sup>1)</sup>, Terakawa M<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Wada A, Muto T<sup>1)</sup>, Tanaka T<sup>1)</sup>, Maruoka H<sup>1)</sup>, Nagahira K<sup>1)</sup>, Nakatsuka T<sup>1)</sup>, Fukuda Y<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Daiichi Asubio Pharma). Oral administration of chymase inhibitor improves dermatitis in NC/Nga mice. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 971-3.
- 2) Furuta T<sup>1)</sup>, Kikuchi T<sup>1)</sup>, Iwakura Y<sup>1)</sup>, Watanabe N (<sup>1</sup>Univ Tokyo). Protective roles of mast cells and mast cell-derived TNF in murine malaria. *J Immunol* 2006; 177(5): 3294-302.
- 3) Furuta T<sup>1)</sup>, Kikuchi T<sup>1)</sup>, Akira S (Osaka Univ), Watanabe N, Yoshikawa Y<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Univ Tokyo). Roles of the small intestine for induction of toll-like receptor 4-mediated innate resistance in naturally acquired murine toxoplasmosis. *Int Immunol* 2006; 18(12): 1655-62.
- 4) Morimoto M<sup>1)</sup>, Yamauchi Y<sup>1)</sup>, Shinkawa S<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Hayashi T<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Yamaguchi Univ). Nematode infection in alymphoplasia (*aly*) mice: worm species-dependent differential effect of defects of the gut-associated lymphatic tissue system. *Scand J Immunol* 2006; 63(5): 365-70.
- 5) Makioka A, Kumagai M, Takeuchi T (Keio Univ), Nozaki T (Gunma Univ). Characterization of protein geranylgeranyltransferase I from the enteric protist *Entamoeba histolytica*. *Mol Biochem Parasitol* 2006; 145: 216-25.
- 6) Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S<sup>1)</sup>, Takeuchi T<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Keio Univ). Effect of artificial gastrointestinal fluids on the excystation and metacystic development of *Entamoeba invadens*. *Parasitol Res* 2006; 98: 443-6.

### II. 総説

- 1) 渡辺直熙. 寄生虫感染とアレルギー疾患 (解説). *アレルギー科* 2006; 21(2): 173-7.

### III. 学会発表

- 1) 渡辺直熙, 河津信一郎<sup>1)</sup>, 狩野繁之<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>国際医療センター), 古田隆久 (東大). マラリア原虫 peroxiredoxin による TLR4 を介した樹状細胞活性化. 第75回日本寄生虫学会大会. 弘前, 5月.
- 2) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 渡辺直熙, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内勤<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>慶応大). *Entamoeba* の脱嚢および脱嚢後アメー

バの発育へのシステインプロテアーゼの関与. 第75回日本寄生虫学会大会. 弘前, 5月. [第75回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2006: 62]

- 3) 熊谷正広, 稲葉孝志(弘前大), 牧岡朝夫, 石渡賢治, 大西弘太郎, 渡辺直熙. グリセリン・ゼリーを用いた虫卵の永久封入標本の作製法. 第75回日本寄生虫学会大会. 弘前, 5月. [第75回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2006: 93]
- 4) 石渡賢治, 渡辺直熙. *Nippostrongylus brasiliensis* 感染によるマウス樹状細胞の活性化における IL-4 の役割. 第75回日本寄生虫学会大会. 弘前, 5月. [第75回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2006: 85]
- 5) 渡辺直熙, 岩倉洋一郎<sup>1)</sup>, 古田隆久<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>東大). マスト細胞由来 TNF によるマラリア原虫感染防御. 第71回インターフェロンサイトカイン学会. 西宮, 7月.
- 6) 渡辺直熙, 菊池たかね<sup>1)</sup>, 古田隆久<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>東大). トキソプラズマの経口感染における TLR4 依存性の防御発現. 第17回日本生体防御学会学術総会. 札幌, 7月.
- 7) Watanabe N, Kikuchi T<sup>1)</sup>, Iwakura Y<sup>1)</sup>, Kawazu S<sup>2)</sup>, Kano S<sup>2)</sup> (<sup>2</sup>International Medical Center of Japan), Furuta T<sup>1)</sup> (Tokyo Univ). Protective roles of mast cell-derived TNF in murine malaria. 11th International Congress of Parasitology (ICOPA XI). Glasgow, Aug. [11th International Congress of Parasitology Abstracts 2006: 637-9]
- 8) Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S<sup>1)</sup>, Takeuchi T<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Keio Univ). Effect of artificial gastrointestinal fluids on the excystation and metacystic development of *Entamoeba invadens*. 11th International Congress of Parasitology (ICOPA XI). Glasgow, Aug.
- 9) Ishiwata K, Watanabe N. Primed mucins in immune mice allow attainment of challenged adult *Nippostrongylus brasiliensis* in the small intestine, but prevent the establishment. 11th International Congress of Parasitology (ICOPA XI). Glasgow, Aug. [11th International Congress of Parasitology Abstracts 2006: 453-6]
- 10) 渡辺直熙, 古田隆久 (東大). マラリアとマスト細胞. 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京, 11月. [アレルギー 2006; 55(8-9): 1098]
- 11) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内勤<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>慶応大). システインプロテアーゼ阻害剤による *Entamoeba* の脱嚢及び脱嚢後アメーバの発育の抑制. 第47回日本熱帯医学会大会. 長崎, 10月. [Trop Med Health 2006; 33(Suppl): 178]
- 12) 小畑一茂<sup>1)</sup>, 向井香織<sup>1)</sup>, 石渡賢治, 渡辺直熙, 峯岸克行<sup>1)</sup>, 鳥山一<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>東医歯大). マウス好塩基球特異的モノクローナル抗体の樹立と好塩基球の機能解析. 第

- 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 11 月. [アレルギー 2006: 55(8-9); 1201]
- 13) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内 勤<sup>1)</sup> (慶応大). 情報伝達分子阻害剤による *Entamoeba* の脱嚢および発育の抑制. 第 39 回日本原生動物学会大会. 佐賀, 11 月. [原生動物学会誌 2007; 40: 39-40]
- 14) Furuta T (Tokyo Univ), Watanabe N. Characterization of TLR4-mediated signaling by malarial peroxiredoxin. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会. 大阪, 12 月. [日本免疫学会総会・学術集会記録 2006; 36: 109]
- 15) Obata K<sup>1)</sup>, Mukai K<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Watanabe N, Minegishi Y<sup>1)</sup>, Karasuyama H<sup>1)</sup> (Tokyo Med and Dent Univ). Functional analysis of basophils with newly established mAbs. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会. 大阪, 12 月. [日本免疫学会総会・学術集会記録 2006; 36: 151]
- 16) Watanabe N, Furuta T (Tokyo Univ). Mast cells in protection to *Plasmaodium berghei*. The 35th Keystone Symposia. Keystone, Jan.
- 17) 渡辺直熙, 古田隆久 (東大). マスト細胞由来 VEGF によるマラリア原虫感染防御. 第 76 回日本寄生虫学会大会. 大阪, 3 月. [第 76 回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2007; 50]
- 18) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 渡辺直熙, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内 勤<sup>1)</sup> (慶応大). *Entamoeba* の脱嚢・発育に及ぼす人工胃液及び人工腸液の効果. 第 76 回日本寄生虫学会大会. 大阪, 3 月. [第 76 回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2007: 70]
- 19) 熊谷正広, 牧岡朝夫, 渡辺直熙, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内 勤<sup>1)</sup> (慶応大). SELDI-TOF-MS ProteinChip システムによる赤痢アメーバおよび *Entamoeba dispar* の株間の違い. 第 76 回日本寄生虫学会大会. 大阪, 3 月. [第 76 回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2007: 73]
- 20) 石渡賢治, 渡辺直熙. 虫体内 ATP の測定による消化管寄生線虫排除機構の検討. 第 76 回日本寄生虫学会大会. 大阪, 3 月. [第 76 回日本寄生虫学会大会プログラム・抄録集 2007; 60]
- 白網羅的解析法開発と疫学研究等への応用. 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業 [施設内感染に係る赤痢アメーバ症等原虫疾患の感染経路及び予防法の開発に関する疫学研究] 総括・分担研究報告書 2006: 22-4.
- 3) 牧岡朝夫. *Entamoeba* の脱嚢関連遺伝子の同定およびプロテオーム解析 (平成 16-18 年度科学研究費補助金基盤研究 (C) 研究成果報告書). 2007.

#### IV. 著 書

- 1) 熊谷正広. 蟻虫症. 山口 徹ほか編. 今日の治療指針. 東京: 医学書院, 2006. p.185.

#### V. その他

- 1) 渡辺直熙. 自己点検外部評価報告書 [信州大学大学院医学研究科臓器移植細胞工学医科学系専攻 (独立専攻)]. 2006.
- 2) 牧岡朝夫, 竹内 勤 (慶応大). アメーバ等原虫の蛋