

月.

- 7) 松本紗里(東京医科歯科大学), 岩楯公晴, 落合恵理子, 青柳美輪子, 酒井健太郎, 阿部俊太郎, 前橋恭子, 福井謙二. 索溝の性状に関する実験的研究. 第92次日本法医学会総会. 長崎, 4月. [日法医誌 2008; 62(1): 81]
- 8) 鹿 智恵, 福井謙二, 千葉 諭, 永妻啓介, 羽野 寛. 肝細胞がんの発生における DLC1 の関連性について. 第97回日本病理学会総会. 金沢, 5月. [日病理会誌 2008; 9(1): 270]

## 熱帯医学講座

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

### 教育・研究概要

#### I. マラリアとマスト細胞

マラリアは原虫感染症のうちで最も対策の急がれる熱帯病である。われわれは赤血球内のマラリア原虫への防御や病態発現は、自然免疫と獲得免疫を介して血管周囲に分布するマスト細胞が担うとする独自の仮説のもとに研究を進めてきた。これまでに、マスト細胞欠損動物では感染防御能が低下し、マスト細胞から分泌されるサイトカインである TNF や血管内皮増殖因子 (VEGF) が防御に関与することをネズミマラリアで明らかにしている。そこで、VEGF の作用を明らかにするため、ネズミマラリアにおける VEGF の受容体 (VEGFR) の同定を試みた。その結果、血管内皮細胞上の VEGFR2 を介する防御発現が明らかになった。一方、マクロファージ上に多く発現する VEGFR1 の関与は否定的であった。これらのマウスにおける実験結果をヒトで検証することを試みた。血清中の VEGF 値は熱帯熱マラリアおよび三日熱マラリアの患者で健康人に比して有意に増加していた。次にヒトのマスト細胞株からの VEGF 産生を検討した。培養したヒトのマスト細胞株を熱帯熱マラリア原虫または三日熱マラリア原虫の抽出物で刺激すると VEGF の分泌が認められた。マラリア患者の血清について可溶性 VEGFR を測定すると、健康人に較べて可溶性 VEGFR2 の有意な上昇がみられたが、可溶性 VEGFR1 の値には有意差がみられなかった。以上の知見から、ヒトとマウスのマラリア原虫感染において、マスト細胞に由来する VEGF が血管内皮細胞上の VEGFR2 を介して防御や病態に関与することが示唆され、マスト細胞は感染防御を担う細胞として位置づけられる。

#### II. 消化管寄生線虫の宿主腸管粘液に対する化学走性

消化管腔に存在する寄生虫は粘膜上の粘液の影響を最も強く受けている。また、その排除は虫体の殺滅を伴わず、虫体の定着を阻害することに依ると考えられている。つまり、消化管寄生虫の排除は T

細胞によって誘導されるものの、そのエフェクター分子は粘膜組織から粘液中に放出されて虫体に作用していると考えられる。そこで、エフェクターを含む粘液が消化管寄生虫にストレスなど何らかの影響を与えていることを想定し、マウスの小腸粘液に対するネズミの消化管寄生線虫 *Nippostrongylus brasiliensis* の化学走性を調べた。マウスにおける *N. brasiliensis* の定着期（感染後5～6日）と排除期（同9～10日）の小腸粘液を用い、*N. brasiliensis* をシャーレ内の寒天の中央においた後に粘液を載せて37°C、5% CO<sub>2</sub> で培養した。排除期の粘液をシャーレの中心においた場合、*N. brasiliensis* は対照としておいたリン酸緩衝生理食塩水に比してより多く周辺へ移動した。粘液をシャーレの辺縁においた場合、周辺へ広がる *N. brasiliensis* の数が減少した。*N. brasiliensis* は排除期の粘液に対して負の化学走性を示したが、定着期の粘液に対しても同様の走性を示した。一方、小腸粘液の成分である胆汁に対しては、中心と辺縁の間に同心円状に分布する傾向にあった。これは、小腸が *N. brasiliensis* にとって必ずしもよい環境ではないが、胆汁を含めた他の因子がその定着に関与している可能性を示唆している。

### III. アメーバの脱嚢と発育の機序

赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*: Eh) の嚢子内虫体は脱嚢誘導により運動性を回復し、嚢子壁に開けた小穴から運動性を介して脱嚢することから、脱嚢時にアクチン細胞骨格の再編成による運動性およびその調節は必須であると考えられる。そこで、アクチン細胞骨格再編成の最重要分子の一つであるアクチン脱重合分子コフィリン (cofilin: Cf) に注目して解析した。赤痢アメーバの脱嚢・発育のモデルとなる *E. invadens* (Ei) を用い、栄養型を嚢子形成液に移し3日間培養することにより嚢子を得て、この嚢子を栄養型培養液に戻すことにより脱嚢を誘導した。赤痢アメーバおよび *E. invadens* ゲノムデータベースを検索したところ、赤痢アメーバでは1種 (EhCf)、*E. invadens* では3種 (EiCf-1, Cf-2, Cf-3) のコフィリンの存在が判明した。リアルタイム RT-PCR により、EiCf の脱嚢誘導5時間後の mRNA 量を誘導前と比較したところ、すべてのコフィリンで mRNA 量の亢進が認められた。また、ウサギ抗 EiCf-2 抗体ならびにマウスモノクローナル抗アクチン抗体を用いた免疫蛍光染色によりコフィリンおよびアクチンの局在を調べた結果、栄養型においては細胞膜直下の領域が両者ともに染

色され、同じ局在を示した。とくに、仮足の部分は両者ともに強く染色され、アメーバの運動への関与が強く示唆された。嚢子においても両者ともに細胞膜直下の周辺部に局在がみられた。以上の結果から、脱嚢誘導によるコフィリンの発現亢進、アクチンとの共局在、運動性との密接な関連が明らかになった。

### IV. 完全長 cDNA を用いた *Entamoeba* のトランスクリプトーム解析

cDNA ライブラリーの構築はトランスクリプトーム解析に必須であるが、従来の方法では5'末端の欠損した不完全な cDNA しか得られない場合がほとんどであった。5'末端のキャップ構造に着目し、この問題点を克服したのがオリゴキャップ (oligo-cap) 法であり、これにより mRNA の5'末端を含む完全長 cDNA ライブラリーの構築が可能となった。今回、この方法を用いて赤痢アメーバと *E. invadens* 栄養型の完全長 cDNA ライブラリーを構築するとともに、データベース化し、Full-*Entamoeba* として公開した。これには赤痢アメーバと *E. invadens* のそれぞれ1,150, 1,238個の遺伝子情報が含まれている。赤痢アメーバおよび *E. invadens* の cDNA の網羅的解析から、5'非翻訳領域 (5' UTR) がそれぞれ平均12, 10 base pair であり、他の生物に比し著しく短いことが明らかになった。今回構築した完全長 cDNA データベースはゲノムデータベースの補完に役立つばかりでなく、アメーバ遺伝子の転写・翻訳調節機構の解析に極めて有用であると考えられた。

#### 「点検・評価」

研究では、公的研究費の採択は文部科学省科学研究費2件のみと近年で最も少なかった。学内の研究奨励費1件と企業からの受託研究も1件で、講座の研究費の総額も少ない。研究内容は大きな変更はなく継続して進められている。研究では寄生現象を通して生命現象を理解する新たな概念の導入とその証明が求められる。現象をつまびらかに解析する過程での思考力や洞察力が新たな概念を導くのである。各自の研究の意義と方向を常に省みて、より優れたものへと発展させる努力が必要である。安易な方向に流れることなく、重要な問題を精選して取り組む姿勢を忘れてはならない。

教育では、「寄生虫学実習」が学生から高い評価を得ていない。これまで寄生虫症の診断のための基本事項、とりわけ検査法の選択と虫体鑑別による診断を中心に実習が行なわれてきた。とくに実物にふ

れることで感性を通して学ぶことの重要性を強調してきた。また講義が虫体別であるのに対比して、実習では臓器別の寄生虫症の理解を試みている。しかしながら、実習は時間の制約もあり、問題解決型になっていない。実習の内容と方法を問い直す時期にきているのかもしれない。講義「寄生虫と感染」は従来と同様に学生から高い評価を受けた。この講義はすべて熱帯医学講座の教員によって行なわれているので教育内容に統一がとれていることがその理由の1つと考えられる。寄生虫症の要点をわかり易く伝え、理解を深めることにとどまらず、広い視野からの教育へと発展することが望まれる。世界の感染症への対応を題材に、医学の果たす役割や自然環境および社会構造などを理解し、すべての人が平和で健康に生活できる社会の達成を考える機会を提供したい。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Ikeshima H, Wada A, Ishiwata K, Watanabe N, Saito S. Cloning and expression of cDNA for interleukin 4 from the MSKR inbred strain of *Mus musculus molossinus*. In Vivo 2009; 23(2): 277-80.
- 2) Furuta T<sup>1)</sup>, Imajo-Ohmi S<sup>1)</sup>, Fukuda H<sup>1)</sup>, Kano S (Int. Med. Cent. of Japan), Miyake K<sup>1)</sup> (Tokyo Univ.), Watanabe N. Mast cell-mediated immune responses through IgE antibody and Toll-like receptor 4 by malarial peroxiredoxin. Eur J Immunol 2008; 38(5): 1341-50.
- 3) Bruschi F (Univ. Pisa), Korenaga M (Kochi Univ.), Watanabe N. Eosinophils and trichinella infection: toxic for the parasite and the host? Trends Parasitol 2008; 24(10): 426-7.
- 4) Tetsutani K<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Torii M (Ehime Univ.), Hamano S<sup>1)</sup>, Hisaeda H<sup>1)</sup>, Himeno K<sup>1)</sup> (Kyushu Univ.). Concurrent infection with *Heligmosomoides polygyrus* modulates murine host response against *plasmodium berghei* ANKA infection. Am J Trop Med Hyg 2008; 79(6): 819-22.

### II. 総説

- 1) 渡辺直熙. 【小児疾患診療のための病態生理】感染症 寄生虫症. 小児内科 2008; 40(増刊): 1236-9.

### III. 学会発表

- 1) 渡辺直熙, 古田隆久<sup>1)</sup>, 三宅健介<sup>1)</sup> (東大). マラリア原虫感染における RP105/MD-1 を介する免疫調節. 第 77 回日本寄生虫学会大会. 長崎, 4月. [第 77 回日

本寄生虫学会大会抄録集 2008; 63]

- 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> (慶応大). *Entamoeba* の脱嚢および脱嚢後アメーバの発育へのセリンプロテアーゼの関与. 第 77 回日本寄生虫学会大会. 長崎, 4月. [第 77 回日本寄生虫学会大会抄録集 2008; 88]
- 3) 石渡賢治, 渡辺直熙.  $\alpha 2$  アドレナリン受容体作動薬を用いたマウス小腸からの *Nippostrongylus brasiliensis* 排除の動態解析. 第 77 回日本寄生虫学会大会. 長崎, 4月. [第 77 回日本寄生虫学会大会抄録集 2008; 81]
- 4) 古田隆久<sup>1)</sup>, 高村(赤司)祥子<sup>1)</sup>, 三宅健介<sup>1)</sup> (東大), 渡辺直熙. Toll-like receptor 4 の agonist によるマラリアの感染制御. 第 77 回日本寄生虫学会大会. 長崎, 4月. [第 77 回日本寄生虫学会大会抄録集 2008; 64]
- 5) 石渡賢治. 消化管寄生線虫 *Nippostrongylus brasiliensis* が小腸上部に寄生する理由. 特定領域研究「感染現象のマトリックス」横糸研究会テーマ 3: 病原体のトロピズム決定機構. 鎌倉, 4月.
- 6) 渡辺直熙, 古田隆久<sup>1)</sup>, 三宅健介<sup>1)</sup> (東大). MD-1 によるマラリアの防御免疫制御. 第 19 回日本生体防御学会学術総会. 札幌, 7月. [補体シンポ講集 2008; 45: 147]
- 7) 古田隆久<sup>1)</sup>, 高村(赤司)祥子<sup>1)</sup>, 三宅健介<sup>1)</sup> (東大), 渡辺直熙. Toll-like receptor 4 の agonistic antibody によるマラリアの制御. 第 19 回日本生体防御学会学術総会. 札幌, 7月. [補体シンポ講集 2008; 45: 151-2]
- 8) 石渡賢治, 渡辺直熙. *Nippostrongylus brasiliensis* の宿主腸管粘液に対する走性. 第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会. 浜松, 10月. [第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会プログラム・講演要旨集 2008; 20]
- 9) 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. ホールグラスを用いた蠕虫卵の液浸標本の作製法. 第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会. 浜松, 10月. [第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会プログラム抄録集・講演要旨集]
- 10) 石渡賢治, 近藤遥子, 高橋 梓, 猪爪知奈, 松岡 諒, 渡辺直熙. *In vitro* 系を用いた消化管寄生線虫に対する宿主消化管粘液の作用解析. 第 125 回成医会総会. 東京, 10月. [第 125 回成医会総会抄録集 2008; 17]
- 11) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内 勤<sup>1)</sup> (慶応大). *Entamoeba* の脱嚢及び発育へのセリンプロテアーゼの関与とその発現解析. 第 49 回日本熱帯医学学会大会・第 23 回日本国際保健医療学会学術大会合同大会. 東京, 10月.

- 12) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内 勤<sup>1)</sup>(慶応大). セリンプロテアーゼは *Entamoeba* の脱囊及び発育に関与する. 第 41 回日本原生動物学会大会. 筑波, 11 月. [原生動物学雑誌 2009; 42(1): 84]
- 13) 石渡賢治, 渡辺直熙. *Nippostrongylus brasiliensis* の宿主腸管粘液成分に対する走性. 第 2 回蠕虫研究会. 宮崎, 11 月. [第 2 回蠕虫研究会プログラム・講演要旨 2008; 20]
- 14) Watanabe N, Akashi-Takamura S<sup>1)</sup>, Miyake K<sup>1)</sup>, Furuta T<sup>1)</sup>(東大). Protective and therapeutic effects of agonistic antibody to TLR4/MD-2 on malaria. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会. 京都, 12 月. [日免疫学会学術記録 2008; 38: 86]
- 15) Furuta T<sup>1)</sup>, Imanishi K<sup>2)</sup>, Ueshiba H<sup>2)</sup>, Ezaki T<sup>2)</sup>, Iwakura Y<sup>1)</sup>(東大), Watanabe N, Uchiyama T<sup>2)</sup>(東女医大). Active involvement of mast cells and mast cell-derived TNF in pathogenic mechanisms of superantigen-mediated diseases. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会. 京都, 12 月. [日免疫学会学術記録 2008; 38: 159]
- 16) Wada T<sup>1)</sup>, Obata K<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Minegishi Y<sup>1)</sup>, Watanabe N, Karasuyama H<sup>1)</sup>(東医歯大). The role for basophils in the protection against external parasites. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会. 京都, 12 月. [日免疫学会学術記録 2008; 38: 85]
- 17) Obata K<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Wada T<sup>1)</sup>, Kawano Y<sup>1)</sup>, Minegishi Y<sup>1)</sup>, Watanabe N, Karasuyama H<sup>1)</sup>(東医歯大). Basophils play a protective role against *Nippostrongylus brasiliensis*. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会. 京都, 12 月. [日免疫学会学術記録 2008; 38: 85]
- 18) 牧岡朝夫, 熊谷正広, 小林正規<sup>1)</sup>, 竹内 勤<sup>1)</sup>(慶応大). *Entamoeba* の脱囊・発育に関与するセリンプロテアーゼの解析. 第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸, 12 月. [講演要旨集]
- 19) Hiranuka K<sup>1)</sup>, Katayama T<sup>2)</sup>, Kumagai M, Makioka A, Watanabe J<sup>2)</sup>(Tokyo Univ.), Kanehisa M<sup>1)</sup>(Kyoto Univ.). Extremely short 5'untranslated region in *Entamoeba* genes. 2008 年日本バイオインフォマティクス学会年会. 大阪, 12 月.
- Watanabe J<sup>1)</sup>, Wakaguri H<sup>1)</sup>, Suzuki Y<sup>1)</sup>, Sugano S<sup>1)</sup>(Tokyo Univ.), Toyoda A(National Institute of Genetics of Japan), Makioka A. Full-*Entamoeba*: *Entamoeba histolytica* and *E. invadens* full-length cDNA database. <http://fullent.hgc.jp/>. 2008.

## V. その他

- 1) 牧岡朝夫, 竹内 勤(慶応大). アメーバ等原虫の蛋白網羅的解析法開発と疫学研究への応用. 平成 19 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 2008; 25-9.
- 2) Kumagai M, Hiranuka K<sup>1)</sup>, Katayama K<sup>1)</sup>,