

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K07085

研究課題名（和文）糞口感染地域から得たDNA材料によるプラストシスチスの人畜共通感染性の再検証

研究課題名（英文）Revalidation of zoonotic potential of Blastocystis based on the DNA samples obtained from endemic area of fecal-oral infection.

研究代表者

吉川 尚男（YOSHIKAWA, HISAO）

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：50191557

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は、インドネシアの辺境地で生活様式が縄文時代と同等な電気も水道の無く、家畜と共に住む住民とその家畜の糞便由来DNAを用い、ヒトと動物間のサブタイプの種類と、個々のサブタイプ由来のSSU rRNA遺伝子の変異領域を含む約1kbp以上の塩基配列を5クローンごとに解析し、比較検討した。その結果、ほとんどの住民は家畜動物とは異なったサブタイプが生息しており、宿主特異性が見られた。一方、特定の家族では家畜動物のヤギとの間に遺伝的に相同なサブタイプ1株が生息していた。しかし、ヤギには、遺伝的に異なった2種類のサブタイプ1が混在しており、住民からは片一方のサブタイプ1しか検出されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プラストシスチスの人畜共通感染性については、ヒトと動物由来株が同じサブタイプに属することから想定されてきた。申請者は、サブタイプの分類を提唱した先駆者であり、この考えに否定的であり、これについて議論するために本課題を遂行した。この成果は、プラストシスチスの遺伝的に多様なサブタイプの人畜共通感染性についての問題点を解明することにつながる課題である。

研究成果の概要（英文）：The applicant used fecal DNA from resident people and their livestock living in remote areas of Indonesia without electricity and water systems, whose lifestyle is equivalent to that of the Jomon Period, and analyzed and compared the subtypes between humans and animals and the sequences of more than 1 kbp including variable regions of the SSU rRNA gene from each subtype. The results were analyzed and compared for each of the five clones. The results showed that most subtypes that differed from those of domestic animals, indicating host specificity. On the other hand, certain families inhabited another-subtype 1 that was genetically homologous to the domestic animal goat. However, two genetically distinct subtype 1 strains were mixed with goats, and only one subtype 1 strain was detected in the residents.

研究分野：寄生虫

キーワード：プラストシスチス 人畜共通感染性 遺伝的多様性

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ブラストシスチスは、100年以上前にヒトの糞便から検出され、その後、様々な動物種からも見出された。その後、この微生物は、遺伝的に多型であり、ヒトと動物から遺伝的に似た株が検出され、分子系統学的に様々なサブタイプの種類に分類されてきた。その中で、ヒト由来のサブタイプのほとんどが、ヒト以外の動物種からも検出されたことにより、人畜共通感染性と提唱されてきた。しかし、ブラストシスチスの人畜共通感染性を議論するには、同じサブタイプだけでなく、同一サブタイプ内においても多様性が見られることから、より詳細な比較検討が必要である。

2. 研究の目的

ブラストシスチスの人畜共通感染性については、ヒトと動物由来株が同じサブタイプに属することから想定されてきた。申請者は、サブタイプの分類を提唱した先駆者であり、この考えに否定的であり、これについて議論するために、本課題を遂行した。

3. 研究の方法

ブラストシスチスの人畜共通感染性について議論するために、ヒトと動物とが密接に生活して、お互いに糞便汚染を介して様々な腸管に生息する生物を感染伝播させている環境で生活している地域で採取した糞便由来 DNA を用いた。ヒトと動物間のブラストシスチスのサブタイプの種類と各サブタイプの比較には、我々が開発した SSU rRNA 遺伝子の変異領域を含む約 1kbp 以上の配列を増幅する特異的なプライマーを使用した。この方法により、様々なサブタイプが混在していても、特定のサブタイプのみを増幅させることが可能であった。さらに増幅産物をサブクローニング法により 5 クローンずつ解析し、その塩基配列をアライメントすることにより、同一サブタイプ内の多様性を把握した。

4. 研究成果

インドネシアの辺境地に住む 10 家族の住民と、その家畜動物を対象に、提供された住民の糞便、および採取可能であった家畜動物の糞便から DNA を直接抽出し、その DNA からブラストシスチスのヒトに感染している 9 種類のサブタイプについて、我々が開発した特異的プライマーにより、SSU rRNA 遺伝子の変異領域を含む 1kbp 以上の配列を増幅し、各産物から 5 クローンずつ塩基配列を解読し、アライメント解析と系統樹作成により各サブタイプ内の多様性について解析した。

その結果、10 家族の内、9 家族では、住民と家畜動物に生息するブラストシスチス間に共通したサブタイプは検出されなかった。残りの 1 家族では、住民とヤギから、サブタイプ 1 が検出され、両者のサブタイプ 1 について詳細に解析した結果、遺伝的に異なるサブタイプ 1A とサブタイプ 1B の 2 種類がヤギから検出された。一方、住民からはサブタイプ 1A しか検出されなかった。さらにサブタイプ 1B は、家畜動物の多くのブタから検出された。ブタからは、サブタイプ 1B しか検出されず、一方、ヤギからはサブタイプ 1A とサブタイプ 1B の両方が検出された。さらに、分子系統学的解析によりサブタイプ 1A とサブタイプ 1B は遺伝的に異なった株であることが示された。

これらの結果は、同一サブタイプ内に遺伝的に異なる株が存在し、それらは、遺伝的に異なるためか宿主特異的も異なっていた。さらに、その一方のサブタイプ 1A は人畜共通感染性を示し、他方のサブタイプ 1B は人畜共通感染性を示さなかった。

住民からはサブタイプ 1 以外にサブタイプ 2, 3 が検出されたが、家畜動物内のこれらのサブタイプの生息性は確認できなかった。これらの結果は、ヒトに見られる多くのサブタイプは、人畜共通感染性を示さない可能性が高く、同じサブタイプに属するだけで人畜共通感染性を議論することには無理があることが判明した。今後は、サブタイプ内の多様性について SSU rRNA 遺伝子の変異領域を含む 1kb 以上の配列を用いた詳細な解析が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 42.J. Hendart, T. Mizuno, D. Syafruddin, H. Yoshikawa, M. Matsubayashi, M. Tokoro.	4. 巻 69
2. 論文標題 Three monophyletic clusters in Retortamonas species isolated from vertebrates.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 93-98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2018.12.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 T. Matsumura, J. Hendart, T. Mizuno, D. Syafruddin, H. Yoshikawa, M. Matsubayashi, M. Tokoro.	4. 巻 47
2. 論文標題 Possible pathogenicity of commensal Entamoeba hartmanni revealed by molecular screening of healthy school children in Indonesia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tropical Medicine and Health	6. 最初と最後の頁 7-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41182-018-0132-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Katsumata Maai, Yoshikawa Hisao, Tokoro Masaharu, Mizuno Tetsushi, Nagamoto Takehiro, Hendarto Joko, Asih Puji B.S., Rozi Ismail E., Kimata Isao, Takami Kazutoshi, Syafruddin Din	4. 巻 117
2. 論文標題 Molecular phylogeny of Blastocystis isolates from wild rodents captured in Indonesia and Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Parasitology Research	6. 最初と最後の頁 2841 ~ 2846
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00436-018-5973-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hendarto Joko, Mizuno Tetsushi, Hidayati Anggi P.N., Rozi Ismail E., Asih Puji B.S., Syafruddin Din, Yoshikawa Hisao, Matsubayashi Makoto, Tokoro Masaharu	4. 巻 69
2. 論文標題 Three monophyletic clusters in Retortamonas species isolated from vertebrates	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 93 ~ 98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2018.12.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsumura Takahiro, Hendarto Joko, Mizuno Tetsushi, Syafruddin Din, Yoshikawa Hisao, Matsubayashi Makoto, Nishimura Taro, Tokoro Masaharu	4. 巻 47
2. 論文標題 Possible pathogenicity of commensal Entamoeba hartmanni revealed by molecular screening of healthy school children in Indonesia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tropical Medicine and Health	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41182-018-0132-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 俣野彩楓, 吉川尚男
2. 発表標題 ヒト由来ブラストシスチスの9種類のサブタイプを簡易同定するためのMultiplex-PCRの検討
3. 学会等名 第77回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 船木江理花, 吉川尚男
2. 発表標題 Blastocystisの異なるサブタイプが混在する場合における効率的なサブタイプ同定方法の検討
3. 学会等名 第77回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川尚男, 船木美奈
2. 発表標題 ブラストシスチスのサブタイプ同定の簡略化の試み
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川尚男、アンディニ・ヌルファティマ・カリム
2. 発表標題 プラストシスチス属の遺伝的多様性：インドネシアと日本の野生カエルから分離した株間に見られた多様性について
3. 学会等名 第90日本寄生虫学会総会・第32回日本臨床寄生虫学会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 船木美奈、吉川尚男
2. 発表標題 ヒト由来プラストシスチスの分子系統的に異なる9種類のサブタイプを検出する2種類の方法
3. 学会等名 第76回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横江彩子、吉川尚男
2. 発表標題 プラストシスチスのゲノム上の SSU rRNA 遺伝子コピー間の塩基配列の違いとND3遺伝子の多様性との比較
3. 学会等名 第76回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻本あかり、吉川尚男
2. 発表標題 複数のサブタイプを混合培養した際のBlastocystisの増殖について
3. 学会等名 第75回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ANDINI NURFATIMAH KARIM, HISAO YOSHIKAWA
2. 発表標題 Isolation and characterization of Blastocystis from Indonesian frogs
3. 学会等名 第75回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横江彩子、吉川尚男
2. 発表標題 Blastocystisのゲノム上のSSU rRNA遺伝子コピー間の塩基配列の違いについて:ST6とST7に分類されるヒト由来株と鳥類由来株間の比較
3. 学会等名 第75回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川尚男、岩政綾菜、所正治、ディン・シャフルディン
2. 発表標題 プラストシスチス属の人獣共通感染性、インドネシア・スンバ島の10家族の住民とその家畜動物から分離された株について
3. 学会等名 第88回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisao Yoshikawa, Ayana Iwamasa, Masaharu Tokoro, Takehiro Nagamoto, Din Syafruddin
2. 発表標題 Zoonotic potential of Blastocystis parasites: molecular epidemiological approach to residents and their domestic animals among 10 families in a small Indonesian community with poor hygiene.
3. 学会等名 The 2nd International Blastocystis Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 矢崎裕規 他	4. 発行年 2023年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 452
3. 書名 原生生物学事典	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Eijkman Institute of Molecular Biology http://www.eijkman.go.id/

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
インドネシア	Eijkman Institute	Molecular Biology	