

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 19 日現在

機関番号：13301  
研究種目：基盤研究（B）  
研究期間：2008～2011  
課題番号：20406007  
研究課題名（和文） インドネシアに分布するジアルジアの遺伝的多型形成維持機構の研究  
研究課題名（英文） Molecular epidemiological analysis of *Giardia intestinalis* in Indonesia  
研究代表者  
所 正治（TOKORO MASA HARU）  
金沢大学・医学系・講師  
研究者番号：30338024

研究分野：寄生虫学

科研費の分科・細目：基礎医学・寄生虫学（含衛生動物学）

キーワード：ランブル鞭毛虫、ジアルジア、種内多型、分子寄生虫学、進化、腸管寄生原虫、インドネシア、熱帯医学

## 1. 研究計画の概要

ジアルジア *Giardia intestinalis* (syn. *G. duodenalis*, *G. lamblia*)には、多様な種内多型の存在が知られているが、その形成・維持機構は不明である。本研究では、インドネシアの島々に孤立するジアルジアを材料とした遺伝子型解析によって、種内多型とその地理的分布を明らかにするとともに、背景にある多型形成のメカニズムを解明し、進化的アプローチによる感染症対策に貢献しうる病原体進化の実例を提示することを目指す。

## 2. 研究の進捗状況

1) フィールドワークの実施状況：平成 20 年度から平成 22 年度までの 3 年間にインドネシアスンバ島において各 10 日～2 週間のフィールドワークを 3 回実施し、都市部および農村部の小中学校の学童から計 1800 検体の糞便サンプルおよび 1200 検体の尿サンプルを収集した。その他、野鼠、水牛、イヌ、ブタ、ウシ等のヒトの周辺に生息するほ乳類からの計 500 検体も併せて収集し、顕微鏡および帰国後の PCR によってジアルジアの感染を確認した。

2) データ解析と結果 各ジアルジアサンプルには、GPS を用いた採取地情報の他、採取状況及び家族歴がリンクしている。そこで、遺伝子型の決定により、このような周辺情報と遺伝子型の相関解析を実施した。興味深いことに、採取されたジアルジアの種内多型にはライフサイクルの隔離を疑わせるクラスター構造が認められたが、地理的な隔離とは相関せず、むしろ宿主特異性との相関が示

唆された。一方、世界の他地域（日本、ネパール、パレスチナ等）で採取されたジアルジアとの比較を同一手法で実施した場合でも、インドネシアに分布するジアルジアの遺伝子型に特異なクラスターの形成などは認められず、ジアルジアの多型形成における地理的隔離の意義はやはり否定された。一方、サンプル採取時に評価した下痢症状と遺伝子型の相関は認められず、本原虫の病原性には、免疫などの宿主要因がむしろ影響している可能性がある。

また、尿サンプルを使用した分泌型抗ジアルジア IgA 抗体の評価では、年齢と共に上昇し、成人では感染予防効果を示す抗体価の推移が予想されたが、実際には年齢層での有意差が検出されず、まん延地域での繰り返しの感染による宿主防御反応の蓄積は認められなかった。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

フィールドサンプルおよび関連情報（GPS 情報等）の収集・解析については、問題なく、サンプルの数量と質は当初の計画通りに進行している。しかしながら、地理的隔離の痕跡が存在しない、あるいは抗ジアルジア抗体の年齢に応じた蓄積が認められないなど、予想外のデータが明らかになっており、この点は非常に興味深いものの、研究スケジュールの予定外の変更を必要としている点、また、寄生虫まん延地域では、幅広い寄生原虫の混合感染や繰り返しの感染が常時起こることが明らかになり、1 種のみならずフォーカ

スした研究アプローチでは、総合的な寄生虫まん延の実態を明らかにすることは困難と考えられることから、おおむね順調とした。

#### 4. 今後の研究の推進方策

対象原虫をジアルジアから、非病原性の原虫を含めた幅広い腸管寄生原虫に広げ、他の原虫の遺伝子型研究を専門とする研究分担者を迎え、寄生虫まん延地域における寄生原虫の遺伝子型分布の実態を総合的に解明することを旨とした新規計画に本計画の最終年度前年度応募に申請し、新たな計画として実施していくことになった。

本計画のこれまでのデータについては、インドネシアに分布するジアルジアの遺伝子多型に関する論文として出版するため、データのとりまとめおよび、最終的な事実確認を最終年度のフィールドワークとして実施予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

① Kamikawa R, Inagaki Y, Tokoro M, Roger IA, Hashimoto T. Split introns in the genome of a divergent eukaryote *Giardia intestinalis* are excised by spliceosome-mediated trans-splicing Current Biology. 2011 Feb 22;21(4):311-5. 査読有

② Tokoro M, Syafruddin D, Itoh M, Asih P, Rahman M. Can humoral host immune responses prevent Giardia infection?: The urinary antibody titers in Indonesian school children XII International Congress of Parasitology ICOPA. 2010 Aug;135-138 査読無

③ 所 正治、伊藤 誠、水野哲志、Rahman Moshir, Din Syafruddin. 獲得免疫がジアルジア感染を抑制しているのか? Recent Advances in Medical Sciences: Parasites and their Human and Animal Hosts 2010;31-33 査読無

④ Suzuki Y, Nakamura T, Tokoro M, Togano T, Ohsaka M, Kohri M, Hirata Y, Miyazaki K, Danbara M, Horie R, Miura I, Sunakawa K, Higashihara M. A case of giardiasis expressing severe systemic symptoms and marked hypereosinophilia. Parasitology International. 2010; 59(3):487-9. 査読有

⑤ Hussein AI, Yamaguchi T, Nakamoto K, Iseki M, Tokoro M. Multiple-subgenotype infections of *Giardia intestinalis* detected in Palestinian clinical cases using a subcloning approach. Parasitology International 2009; 58(3):258-262. 査読有

[学会発表] (計 23 件)

① Tokoro M, Matsumura T, Hidayati APN, Syafruddin D. Comprehensive identification of protozoan parasites: distribution of species and genotypes in Sumba Island, Indonesia. 45<sup>th</sup> Annual U.S.-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, 2011 Jan 12. 国立感染症研究所 (東京)

② Tokoro M, Syafruddin D, Itoh M, Asih P. Characteristics of genotype distribution of *Giardia intestinalis* in an endemic area of Indonesia. 11<sup>th</sup> Asian-Pacific Congress for Parasitic Zoonoses, 2010 Oct 27. National Institute of Biological Resources, Incheon (Korea)

③ Tokoro M, Syafruddin D, Itoh M, Asih P, Rahman M. Can humoral host immune responses prevent *Giardia* infection?: The urinary antibody titers in Indonesian school children. XII International Congress of Parasitology, 2010 Aug 15-20. Melbourne Convention and Exhibition Center (Australia)

④ Masaharu Tokoro, Tomohiro Yamaguchi, Amjad I.A. Hussein, Din Syafruddin. How has *Giardia intestinalis* maintained its complex intraspecific diversity?. The 43<sup>th</sup> Annual U.S.-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, 2009 January 8, 国立感染症研究所 (東京).

⑤ Kentaro Nakamoto, Miwa Tanaka, Hiroshi Tachibana, Masaharu Tokoro Molecular identification of *Entamoeba* spp. in cynomolgus monkeys and humans The 43<sup>th</sup> Annual U.S.-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, 2009 January 8, 国立感染症研究所 (東京).

[図書] (計 6 件)

① 所 正治 外来を訪れる寄生虫症: 抗原虫薬: メトロニダゾール、チニダゾール、ST 合剤 Medical Practice 2010. 9 (文光堂): 438-439.

② 所 正治、井関基弘 クリプトスポリジウムとジアルジア 広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査-その数値をどう読むか-[第 7 版] 日本臨床 2010. 6;68(6)増刊号:263-266.

③ 所 正治 ランブル鞭毛虫症 (ジアルジア症)、その他の原虫症 今日の消化器疾患治療指針 第 3 版 2010. 3 (医学書院): 438-439.

④ 所 正治、竹内勤 腸管寄生虫症 別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.12 消化管症候群 (第 2 版) -その他の消化器疾患を含めて- 2009.9:70-74.