

機関番号： 17301  
 研究種目： 基盤研究 (B)  
 研究期間： 2008 ～ 2010  
 課題番号： 20406008  
 研究課題名 (和文) 南アジアにおける赤痢アメーバ症のゲノム疫学  
 および免疫学的コホート研究  
 研究課題名 (英文) The genomic epidemiology and immunological cohort study  
 on amoebiasis in South Asia  
 研究代表者  
 濱野 真二郎 (HAMANO SHINJIRO)  
 長崎大学・熱帯医学研究所・教授  
 研究者番号： 70294915

## 研究成果の概要 (和文)：

バングラデシュにおいて赤痢アメーバ症のゲノム疫学および免疫学的コホート研究を展開した。研究期間中、生後30ヶ月までの新生児385人より1426検体の下痢便検体が得られた。病原性 *E. histolytica* に加えて、非病原性 *E. dispar*、病原性が未確定の *E. moshkovskii* の検出・同定を試みたところ、4.6%の検体において病原性 *E. histolytica* が検出され、およそ3%の検体においては *E. moshkovskii* が検出され、同原虫と下痢症との相関関係が認められた。一方、非病原性 *E. dispar* は僅か0.4%の検体で検出されるにとどまった。さらに、少なくとも6検体が *E. moshkovskii* 単独感染による下痢と考えられた。以上の研究結果より *E. moshkovskii* が小児下痢症の原因となる病原性アメーバである可能性が示唆された。

## 研究成果の概要 (英文)：

We have carried out the genomic epidemiology and immunological cohort study on amoebiasis in Bangladesh and found that *Entamoeba moshkovskii* was prevalent in Bangladesh. *E. moshkovskii* is morphologically indistinguishable from pathogenic *E. histolytica* and non-pathogenic *Entamoeba dispar*. As *E. moshkovskii* has been considered to be a non-pathogenic or a free living amoeba, there are few studies to elucidate the pathogenicity of it. Thus, we carried out the study to clarify the pathogenicity of *E. moshkovskii*. The prevalence of each *Entamoeba* spp. in diarrheal episode was examined in Bangladesh and several cases that were positive only for *E. moshkovskii* but negative for other conceivable diarrhea-causative microbes were found. *E. moshkovskii* was found to be pathogenic to mice and to well associate with diarrheal episode in Bangladeshi children. Therefore it is important to re-estimate the pathogenicity of *E. moshkovskii*.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2009年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2010年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
総計	13,000,000	3,900,000	16,900,000

研究分野： 医歯薬学 A

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： 南アジア、感染症、赤痢アメーバ症、ゲノム疫学、コホート研究

## 1. 研究開始当初の背景

赤痢アメーバ症は発展途上国における小児下痢症の主要原因であり、世界中の感染者人口はおおよそ 5000 万人、同症で毎年 10 万人の命が失われている。同症に対する効果的な対策のためには、赤痢アメーバ原虫の感染成立のメカニズムならびに同原虫に対する感染防御機構の理解が不可欠である。

研究代表者はヴァージニア大学の Petri 教授や Hout 准教授らと共に赤痢アメーバ症に関する共同研究を立ち上げ、過去 5 年間に渡って同症の動物モデル確立に尽力してきた。そして一部のマウスでは、原虫を直接虫垂内に接種することによって慢性感染が成立し、ヒトと同様の病理像を呈することを見出した。また他系統のマウスではほとんど感染が成立しないことも明らかにした (J. Immunol. 2002, Infection and Immunity 2005)。このマウス系統による感染感受性の差異は、ヒトの赤痢アメーバ感受性の個体差を理解する糸口になると考えられた。さらに両系統間の差異は主として非骨髄細胞分画の違いに起因することを明らかにし (J. Immunol. 2006)、また、この赤痢アメーバに対する腸管バリアの維持には骨髄細胞由来の IL-10 が不可欠であることを示した (J. Immunol. 2006)。一旦、腸管のバリアを超えて感染が成立すると、その後の感染防御には IFN- $\gamma$  を中心とした Th1 タイプの免疫応答が重要であることも判明した。

モデル動物を用いた赤痢アメーバに対する感染防御機構の研究を通して、上記知見が得られたが、その研究はまだ端緒に付いたに過ぎない。また実験動物を用いた研究は常にヒトと対比することが肝要である。

## 2. 研究の目的

赤痢アメーバ症が蔓延している南アジア、特にバングラデシュにおいて、国際的な共同研究を展開し、感染の成立から赤痢アメーバ症の発症・重症化までを規定する宿主因子ならびに病原体の病原性因子の同定を目的とする。

## 3. 研究の方法

赤痢アメーバ症のコホート研究（現存する児童群 400 人）に新たに 500 人の新生児群を追加設定し、新生児～乳幼児の感染と免疫応答の動態を疫学的に捕捉する。一方、宿主と病原体の双方向からゲノム疫学的な研究

を網羅的に推進する。またアメーバ原虫に対する自然免疫ならびに獲得免疫応答の解析を行う。

## 4. 研究成果

研究期間中、生後 30 ヶ月までの新生児 385 人より 1426 検体の下痢便検体が得られた。病原性 *E. histolytica* に加えて、非病原性 *E. dispar*、病原性が未確定の *E. moshkovskii* の検出・同定を試みたところ、病原性 *E. histolytica* が 4.6% の検体において検出され、3% の検体においては *E. moshkovskii* が検出され、同原虫と下痢症との相関関係が認められた。一方、非病原性 *E. dispar* は僅か 0.4% の検体で検出されるにとどまった。さらに下痢原性病原体として *Encephalitozoon intestinalis*, *Cyclospora cayetenensis*, *Isoospora belli*, *Enterocytozoon bieneusi*, *E. histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium spp.*, *Vibrio cholera*, EAEC, EHEC, EPEC, ETEC, EIEC and *Shigella spp.*, *Clostridium Jejuni*, Adeno, Astro, Sapovirus, Noro G1, Noro G2, Rota virus を調べたところ、少なくとも 6 検体が *E. moshkovskii* 単独感染による下痢と考えられた。以上の研究結果より *E. moshkovskii* が小児下痢症の原因となる病原性アメーバである可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(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 15 件)

①Buss, S.N., Hamano, S., Vidrich, A., Evans, C., Zhang, Y., Crasta, O.R., Sobral, B.W., Gilchrist, C.A., Petri, W.A. Jr.: Members of the *Entamoeba histolytica* transmembrane kinase family play non-redundant roles in growth and phagocytosis. *Int. J. Parasitol.* 2010; 40(7): 833-43. 査読有

②Miyazaki, Y., Hamano, S., Wang, S., Shimano, Y., Iwakura, Y., Yoshida, H.: IL-17 is necessary for host protection against acute-phase *Trypanosoma cruzi* infection. *J. Immunol.* 2010; 185(2): 1150-1157. 査読有

③Imai, T., Shen, J., Chou, B., Duan, X., Tu, L., Tetsutani, K., Moriya, C., Ishida,

H., Hamano, S., Shimokawa, C., Hisaeda, H., Himeno, K.: Involvement of CD8(+) T cells in protective immunity against murine blood-stage infection with *Plasmodium yoelii* 17XL strain. **Eur. J. Immunol.** 2010; 40(4): 1053-61. 査読有

④Ishida, H., Matsuzaki-Moriya, C., Imai, T., Yanagisawa, K., Nojima, Y., Suzue, K., Hirai, M., Iwakura, Y., Yoshimura, A., Hamano, S., Shimokawa, C., Hisaeda, H.: Development of experimental cerebral malaria is independent of IL-23 and IL-17. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 2010; 402(4): 790-795. 査読有

⑤Watanabe, K., Kishihara, K., Hamano, S., Koga, M., Nomoto, K., Tada, I.: *Strongyloides ratti*: implication of mast cell-mediated expulsion through FcεpsilonRI-independent mechanisms. **Parasite.** 2009; 16(3): 209-214.

⑥Tetsutani, K., Ishiwata, K., Ishida, H., Tu, L., Torii, M., Hamano, S., Himeno, K., Hisaeda, H.: Concurrent infection with *Heligmosomoides polygyrus* suppresses anti-*Plasmodium yoelii* protection partially by induction of CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) Treg in mice. **Eur J Immunol.** 2009; 39(10): 2822-2830.

⑦Igawa, T., Nakashima, H., Sadanaga, A., Masutani, K., Miyake, K., Shimizu, S., Takeda, A., Hamano, S., Yoshida, H.: Deficiency in EBV-induced gene 3 (EBI3) in MRL/lpr mice results in pathological alteration of autoimmune glomerulonephritis and sialadenitis. **Mod. Rheumatol.** 2008.

⑧Tetsutani, K., Ishiwata, K., Torii, M., Hamano, S., Hisaeda, H., Himeno, K.: Concurrent Infection with *Heligmosomoides polygyrus* Modulates Murine Host Response against *Plasmodium berghei* ANKA Infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 2008; 79: 819-822.

⑨Sugiyama, N., Nakashima, H., Yoshimura, T., Sadanaga, A., Shimizu, S., Masutani, K., Igawa, T., Akahoshi, M., Miyake, K., Takeda, A., Yoshimura, A., Hamano, S., Yoshida, H.: Amelioration of human lupus-like phenotypes in MRL/lpr mice by overexpression of interleukin 27 receptor  $\alpha$  (WSX-1). **Ann. Rheum. Dis.** 2008; 67: 1461-1467.

⑩Hamano, S., Becker, S., Asgharpour, A.,

Ocasio, Y.P.R., Stroup, S.E., McDuffie, M., Houpt, E.: Gender and genetic control of resistance to intestinal amebiasis in inbred mice. **Genes Immun.** 2008; 9:452-61

⑪Furuno, K., Ikeda, K., Hamano, S., Fukuyama, K., Sonoda, M., Hara, T., Sasazuki, T., Yamamoto, K.: Onecut transcription factor OC2 is a direct target of T-bet in type-1 T-helper cells. **Genes Immun.** 2008; 9:302-308.

⑫Hisaeda, H., Tetsutani, K., Imai, T., Moriya, C., Tu, L., Hamano, S., Duan, X., Chou, B., Ishida, H., Aramaki, A., Shen, J., Ishii, K.J., Coban, C., Akira, S., Takeda, K., Yasutomo, K., Torii, M., Himeno, K.: Malaria parasites require TLR9 signaling for immune evasion by activating regulatory T Cells. **J. Immunol.** 2008; 180: 2496-2503.

⑬濱野真二郎、吉田祐樹、寄生虫感染と免疫応答、『感染症』40号、査読無、2010年、pp205-211

⑭吉田裕樹・濱野真二郎：原虫感染とIL-12 サイトカインファミリー、『蛋白質核酸酵素』54巻8号、2009年、査読無、pp1059-1065.

⑮小林隆志・川澄みゆり・濱野真二郎：感染症制御における制御性T細胞、『アレルギー・免疫』16巻5号、2009年、査読無、pp 708-714.

〔学会発表〕(計20件)

① 濱野真二郎：新しい病原性腸管アメーバ シンポジウム「熱帯医学と和漢薬研究の新展開—新しい医療体系の構築をめざして—」2011年2月25日 長崎大学熱帯医学研究所大会議室

② Chikako Shimokawa, Mamum Kabir, Mami Taniuchi, Dinesh Mondal, Seiki Kobayashi, Ibne karim M. Ali, Masachika Senba, Eric Hoput, Haque Rashidul, William A. Petri Jr., Shinjiro Hamano: A study on the pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii*、第4回原虫感染免疫研究会 2011年2月4日 長崎大学医学部ポンペ会館

③ Shinjiro Hamano: A study on the pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii*. Intestinal and Free-Living Protozoan parasites Meeting in 45<sup>th</sup> Annual Japan - U.S. Joint Conference on parasitic Diseases, Tokyo. 2011年1月12日 国立感染症研究

所会議室

④ Shinjiro Hamano: A study on the pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii*. 45<sup>th</sup> Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo. 2011年1月11日 国立感染症研究所会議室

⑤ 下川周子、小林正規、千馬正敬、加藤健太郎、大野民生、濱野真二郎: マウスモデルを用いた赤痢アメーバの病原性発現機構の解析、第63回南日本支部大会、2010年11月6日、鹿児島大学農学部

⑥ 下川周子、小林正規、千馬正敬、加藤健太郎、大野民生、Haque Rashidul、William A. Petri Jr.、濱野真二郎: 赤痢アメーバの病原性に関する研究、第9回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、2010年10月8日、長崎大学医学部・良順会館ボードインホール

⑦ 濱野真二郎: 赤痢アメーバ症ならびにリーシュマニア症の研究 ～病原性発現機構ならびに感染防御機構の解明～、第3回 GCOE ワークショップ、2010年9月14日、長崎大学熱帯医学研究所・大会議室

⑧ Chikako Shimokawa, Seiki Kobayashi, Masachika Senba, Eric Houpt, Shinjiro Hamano: *Entamoeba moshkovskii* can establish the infection in the cecum of mice and induce pro-inflammatory cytokine production. 第14回国際免疫学会 2010年8月23日 神戸ポートピアホテル・神戸国際展示場

⑨ 下川周子、小林正規、千馬正敬、加藤健太郎、大野民生、Haque Rashidul、William A. Petri Jr.、濱野真二郎: *E. moshkovskii* の病原性に関する研究、第18回分子寄生虫学ワークショップ、2010年8月3日、群馬大学草津セミナーハウス

⑩ 下川周子、千馬正敬、石渡賢治、小林正規、濱野真二郎: Intestinal helminthic infection enables *Entamoeba histolytica* to settle in mice. 第3回原虫感染免疫研究会、2010年3月26-27日、長崎大学熱帯医学研究所大会議室

⑪ Shinjiro Hamano: Genetic control of resistance to intestinal amebiasis in inbred mice. The 4th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases.、2009年11月26-28日、長崎大学良順会館・ポンペ会館

⑫ 三井義則、三浦光政、青木克己、濱野真二郎: マンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) の成虫の生存期間及び虫卵の生産

に与えるアルテスネイトのインビトロでの効果、第3回蠕虫研究会、2009年11月13-14日、宮崎市青島サンクマール

⑬ 濱野真二郎、下川周子、Haque Rashidul、Mondal Dinesh、カラ・アザールの発症を規定する内部環境因子に関する研究、第8回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、2009年10月9-10日、大阪市千里ライフサイエンスセンター

⑭ Shinjiro Hamano、Becker Stephen、Asgharpour Amon、Ocasio Yina P. R.、Stroup Suzanne E.、Mc Duffie Marcia、Houpt Eric: 赤痢アメーバの感染成立を規定する宿主因子に関する研究、第78回日本寄生虫学会、2009年3月27-28日、法政大学市ヶ谷キャンパス

⑮ 濱野真二郎: 赤痢アメーバの腸管定着組織に関する研究、第2回原虫感染免疫研究会、2009年2月21日-22日、佐賀大学医学部看護学科棟

⑯ HAMANO S, BECKER S, ASGHARPOUR M, CASIO PR. Y, STROUP E. S, MCDUFFIE M, HOUP T E, 赤痢アメーバ原虫の腸管内感染成立・不成立を規定する因子に関する遺伝学的研究、第38回日本免疫学会総会、2008年12月1日 - 3日、国立京都国際会館

⑰ S. Hamano, S. Becker, A Asgharpour, YPR Ocasio, SE Stroup, M Meduffie, E Houpt: Genetic control of resistance to intestinal amebiasis in inbred mice: 第17回国際熱帯医学マラリア会議、2008年9月29日 - 10月3日、International Convention Center Jeju, Jeju, Korea

⑱ 濱野真二郎: Gender and genetic control of resistance to intestinal amebiasis in inbred mice: 第8回あわじしま感染症免疫フォーラム、2008年9月7日 - 11日、兵庫県立淡路夢舞台国際会議場

⑲ 濱野真二郎: 寄生虫のトロピズム、2008年4月25-26日、横糸研究会3病原体のトロピズム決定機構、2008年4月25-26日、KKR鎌倉わかみや

⑳ 濱野真二郎、Asgharpour Amon, Ocasio P. Rodriguez Yina, McDuffie Marcia, Houpt Eric: Genetic control of resistance to the establishment of *Entamoeba histolytica* infection in mice. 第77回日本寄生虫学会、2008年4月3日-4日、長崎ブリックホール・長崎新聞文化ホール・アストピア

〔図書〕（計3件）

① Hamano, S. and William A. Petri Jr. :  
Chapter 209: Amoebiasis in "Feigin, Cherry,  
Demmler, Kaplan : Textbook of Pediatric  
Infectious Disease, 6th edition" Elsevier,  
London, 2009, vol.2, 2841-2849.

② Hamano, S. and William A. Petri Jr. :  
Amoebiasis in "International Encyclopedia  
of Public Health" Academic Press, San Diego,  
2008, Vol. 5, 335-341.

③ 濱野真二郎、寄生虫による病気 in 家庭  
の医学 第6版、2008、1523-1535.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

濱野 真二郎 (HAMANO SHINJIRO)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号： 70294915

### (2) 研究分担者

久枝 一 (HISAEDA HAJIME) (2009 年度)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号： 50243689