

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23406009

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000 円、(間接経費) 4,410,000 円

研究成果の概要(和文)：ダッカのスラム街において新生児・乳児の健康状態をモニタした。出生から2年の間におよそ8割の子供が赤痢アメーバに感染し、2割弱の子供は赤痢アメーバ感染を伴う下痢症を呈した。Entamoeba moshkovskii 感染を伴う下痢エピソードも40例以上認められた。以上より、新生児・乳児は高頻度に赤痢アメーバに感染している実態が浮き彫りになった。また、E. moshkovskii の遺伝子多型解析より下痢エピソードに相関する遺伝子型が存在する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In Mirpur, Dhaka, Bangladesh, natural exposure to Entamoeba spp. in infancy was prospectively observed. Approximately, 80% of children had been infected with Entamoeba histolytica by age two years, with around 20% having suffered from E. histolytica. Furthermore, newly acquired E. moshkovskii infection was associated with diarrhea. Genetic analysis revealed that E. moshkovskii isolates infecting children were genetically heterogeneous, as evidenced by PCR typing of tRNA locus R-R. It will be important in future studies of the potential pathogenicity of E. moshkovskii to take into account this heterogeneity, as for the case of E. histolytica, not every genotype is equally capable of causing disease.

研究分野：医歯薬学

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：赤痢アメーバ 新生児 乳児 コホート研究 Entamoeba histolytica Entamoeba moshkovskii 南アジア バングラディシュ

## 1. 研究開始当初の背景

世界の5歳未満児死亡数は920万人であり、その20%は下痢性疾患に因る(UNICEF, 2007年, 世界子供白書)。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よそ5000万人、同症で毎年10万人の命が失われている。

赤痢アメーバ症のフィールド研究としては、ヴァージニア大学のPetri教授とバングラデシュ国際下痢症研究センター(ICDDR, B)のHaque博士らとの間で進められてきたコホート研究が世界的に最も代表的である。彼らはDhakaのMirpurというスラム街に住む2歳から5歳の子供400人を対象として過去10年に渡って赤痢アメーバ感染のコホート研究を続けてきた。多くの研究成果が得られ、a) 2歳以上の小児における赤痢アメーバ原虫の感染率・発症率を明らかにした。また、b) 赤痢アメーバ原虫のgenotypesによって病原性が異なること、c) 赤痢アメーバ原虫のGal/GalNAc結合型レクチンに特異的な粘膜分泌型IgAが感染防御に働くことなどが示された。赤痢アメーバ原虫に対する特異的な免疫応答を示さないのに、赤痢アメーバ原虫に罹患しない相当数の子供が見出されるなど、自然抵抗性もしくは自然免疫の存在も示唆された。しかしながら新生児・乳児における赤痢アメーバの感染状況は不明なままである。

応募者は下痢性疾患が蔓延するバングラデシュにおいて、ゲノム疫学・免疫学的コホート研究を行えば、赤痢アメーバの病原性と粘膜における感染防御機構、また新生児・乳児における赤痢アメーバ感染状況を把握できると確信して本研究申請に至った。

## 2. 研究の目的

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る。新生児・乳児における赤痢アメーバに対して効果的な対策を講ずるには、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。我々は赤痢アメーバ症が蔓延している地域、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を同定すると共に、新生児・乳児における赤痢アメーバ感染状況を把握することを目的とする。

## 3. 研究の方法

バングラデシュ、ダッカ市内のMirpurというスラム街で現地調査を行った。臨床サンプルを用いた研究およびデータの解析はバングラデシュ国際下痢症研究センターで行われた。多くの場合、タイ王国(バンコック)経由の旅行経路が選択された。赤痢アメーバ症の病態と原虫の種(*E. histolytica* や *E. moshkovskii*) genotypes との比較では、熱帯が拠点を設置するケニア中央医学研究所との共同研究も計画された。

疫学調査はヴァージニア大学のPetri教授、バングラデシュ国際下痢症研究センター(ICDDR, B)のHaque部長とMondal博士と共に行われた。研究開始後、新生児をコホート研究の対象とした。対象児童ならびに新生児たちの糞便は毎月一度赤痢アメーバ感染の有無や(赤痢アメーバ抗原検出キット、TechLab, Inc.を使用)腸管蠕虫感染の有無について検査された。また6-8人の保健婦さんが週に2日各家庭を見て回り、下痢症の子供がいる場合には下痢便を回収し同様の検査が行われた。

赤痢アメーバの遺伝子多型を解析すると共に血清や末梢白血球を用いて赤痢アメーバに対する自然免疫および獲得免疫応答を測定し、赤痢アメーバ感染の有無や感染時の病態が比較研究された。

## 4. 研究成果

ダッカのスラム街において新生児・乳児の健康状態をモニタした。出生から2年の間におよそ8割の子供が*E. histolytica*に感染し、2割弱の子供は*E. histolytica*感染を伴う下痢症を呈した。*E. moshkovskii*感染を伴う下痢エピソードも*E. histolytica*感染とほぼ同程度認められた。以上より、新生児・乳児は高頻

度に *Entamoeba* spp に感染している実態が浮き彫りになった。また、*E. moshkovskii* の遺伝子多型解析より下痢エピソードに相関する遺伝子型が存在する可能性が示唆された。加えて、*E. histolytica* の Gal/GalNAc に対する母乳中の IgA が、*E. histolytica* 感染に対して防衛的に機能することが判明した。

#### 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 2 件)

Shimokawa, C., Culleton, R., Imai, T., Suzue, K., Hirai, M., Taniguchi, T., Kobayashi, S., Hisaeda, H., Hamano, S.: Species-specific immunity induced by infection with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba moshkovskii* in mice. PLoS One 2013; 8(11): e82025. doi:10.1371/journal.pone.0082025  
査読有

Shimokawa, C., Kabir, M., Taniuchi, M., Mondal, D., Kobayashi, S., Ali, I.K., Sobuz, S., Senba, M., Houpt, E., Haque, R., Petri, W.A., Hamano, S.: *Entamoeba moshkovskii* is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. J. Infect. Dis. 2012; 206(5): 744-751.  
査読有

[学会発表](計 17 件)

Shinjiro Hamano and Chikako Shimokawa: Species-specific immunity induced by infection with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba moshkovskii* in mice. US-Japan panel meeting, Dhaka, Bangladesh, 2014年2月11日(国際学会)

Shinjiro Hamano and Chikako Shimokawa: Intestinal inflammatory mediated clearance of *Entamoeba moshkovskii* independent on IFN- $\gamma$ . 第12回 あわじしま感染症免疫フォーラム、Session 5: Mucosal Immunity and Infection、兵庫、2013年9月12日(国際学会)

Shinjiro Hamano and Chikako Shimokawa: Intestinal inflammatory mediated clearance of *Entamoeba moshkovskii* is dependent on

IFN- $\gamma$ . Forum Cheju 16、Seoul National University、Seoul、Korea、2013年8月31日(国際学会)

下川周子, 小林正規, 千馬正敬, 鈴江一友, 平井誠, 今井孝, 谷口委代, 久枝一, 濱野真二郎: Double-edged effects of IFN- $\gamma$  in amoeba infection of mice, 第82回 日本寄生虫学会, 東京, 2013年3月29日~31日(国内学会)

Shimokawa C, Kabir M, Taniuchi M, Mondal D, Kobayashi S, Ali IK, Sobuz SU, Senba M, Houpt E, Haque R, Petri WA Jr, Hamano S: *Entamoeba moshkovskii* is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. The XVII Amibiasis Meeting, Merida, Mexico, 2013年3月1日~3月5日(国際学会)

Shimokawa C, Hamano S: *Entamoeba moshkovskii* is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. International Workshop on Enteric Protozoan infections. 東京、2013年2月22日(国際学会)

Chikako Shimokawa, Shinjiro Hamano: IFN- $\gamma$  is necessary for clearance of pathogenic amoebae from the intestine of mice、第6回 長崎熱帯病新興感染症シンポジウム、長崎、2012年12月10日~12月12日(国際学会)

Chikako Shimokawa, Shinjiro Hamano: IFN- $\gamma$  is necessary for clearance of pathogenic amoebae from the intestine of mice、第41回 日本免疫学会、大阪、2012年12月5日~12月7日(国内学会)

Chikako Shimokawa, Masachika Senba, Shinjiro Hamano: IFN- $\gamma$  up-regulates NKG2D expression on intestinal intra epithelial cells in mice infected with amoebic parasites、第11回 あわじしま感染症免疫フォーラム、兵庫、

2012年9月11日～9月14日 (国際学会)

Chikako Shimokawa, Shinjiro Hamano:  
Double-edged effects of IFN- $\gamma$  in mice  
infected with *Entamoeba moshkovskii*. 第81  
回 日本寄生虫学会総会、神戸、2012年3  
月23日

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: *Entamoeba moshkovskii* is  
associated with diarrhea in infants and causes  
diarrhea and colitis in mice. 第81回 日本寄  
生虫学会総会、神戸、2012年3月23日

Chikako Shimokawa, Shinjiro Hamano:  
Double-edged effects of IFN- $\gamma$  in mice  
infected with *Entamoeba moshkovskii*. 第5回  
寄生虫感染免疫研究会、大阪、2012年3月2  
日

Shinjiro Hamano, Chikako Shimokawa:  
*Entamoeba moshkovskii* is associated with  
diarrhea in infants and causes diarrhea and  
colitis in mice. 第5回 寄生虫感染免疫研究  
会、大阪、2012年3月1日

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: *Entamoeba moshkovskii* is  
pathogenic and causes intestinal symptoms.  
The 60<sup>th</sup> annual meeting of American society  
of tropical medicine and hygiene,  
Philadelphia、2011年12月4日～8日

Chikako Shimokawa, Shinjiro Hamano:  
IFN- $\gamma$ -mediated protection against *Entamoeba*  
*moshkovskii* infection. 第40回日本免疫学会  
学術集会、幕張、2011年11月27日～29日

Kentaro Kato, Shinjiro Hamano: A  
comparative study on glycosylation patterns  
of mucus glycoprotein between CBA and  
C57BL/6 mice. 第80回日本寄生虫学会大  
会、東京、2011年7月17日

Chikako Shimokawa, Seiki Kobayashi,  
Masachika Senba, Eric Houpt, William A  
Petri Jr., Rashidul Haque, Shinjiro Hamano:  
Pathogenicity of *Entamoeba moshkovskii* in  
human and mice. 第80回日本寄生虫学会大  
会、東京、2011年7月17日

〔図書〕(計 3 件)

濱野真二郎: アメーバ症、今日の診断指針  
第7版、医学書院、2014、印刷中

濱野真二郎: アメーバ症、今日の治療指針  
2014、医学書院、2014、255.

Hamano, S. and William A. Petri Jr.: Chapter  
209: Amoebiasis in “Feigin, Cherry, Demmler,  
Kaplan: Textbook of Pediatric Infectious  
Disease, 7th edition” Elsevier、London, 2013,  
2866-2874.

〔産業財産権〕

○ 出願状況 (計 0 件)

○ 取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/nekken/research/  
parasitology.html](http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/nekken/research/parasitology.html)

## 5 . 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

### (3)連携研究者

加藤 健太郎 (KATO, Kentaro)  
長崎大学・熱帯医学研究所・助教  
研究者番号 : 50508885

見市 文香 (MIICHI, Fumika)  
佐賀大学・医学部・助教  
研究者番号：70576818