

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24406011

研究課題名(和文) 食の安全のためのアジア条虫と無鉤条虫の迅速診断法の開発と宿主特異性遺伝子の解析

研究課題名(英文) Development of the quick diagnostic method for identifying *Taenia asiatica* and *Taenia saginata* for food safety and analysis of the gene causing the host specificity.

研究代表者

岡本 宗裕 (Okamoto, Munehiro)

京都大学・霊長類研究所・教授

研究者番号：70177096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトから採集された無鉤条虫またはアジア条虫のおもわれるテニア属条虫について、ミトコンドリアのcox1遺伝子と三つの核の遺伝子(ef1、elp、pold)の塩基配列を決定し、系統解析をおこなった。その結果、いずれの遺伝子も明確に二つのクラスターに分かれたことから、これらは一度は二つの集団に分かれたと考えられた。一方で、一部の虫体でミcox1遺伝子と核の遺伝子の系統関係に不一致がみられたことから、両者の間で交雑が起きていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：*Taenia* tapeworms collected from humans were examined for the mitochondrial *cox1* gene and two nuclear genes, *ef1*, *elp* and *pold*. Phylogenetic analysis revealed that *Taenia saginata* and *Taenia asiatica* were once separated into two distinct taxa. On the other hand, some worms showed nuclear-mitochondrial discordance. Those facts indicate that they originated from hybridization between *T. saginata* and *T. asiatica*.

研究分野：分子寄生虫学

キーワード：テニア条虫 交雑 無鉤条虫 アジア条虫 中間宿主 家畜

1. 研究開始当初の背景

ヒトを終宿主とするテニア属条虫には、有鉤条虫 (*Taenia solium*)、無鉤条虫 (*Taenia saginata*)、アジア条虫 (*Taenia asiatica*) の3種が知られている。これらの条虫はヒトの腸管に寄生し、テニア症を引き起こす。テニア属の条虫は、中間宿主、終宿主とも哺乳類をその宿主としており、中間宿主は終宿主から排出された虫卵を、終宿主は中間宿主内の幼虫 (囊虫) を経口摂取することにより感染する。上述の3種はそれぞれ、ブタ、ウシ、ブタを中間宿主としている。テニア症を予防するためのもっとも有効な方法は感染源である家畜とヒトの間で成立している生活環を断ち切ることであり、無鉤条虫とアジア条虫は中間宿主が異なっているため、感染源対策には正確な同定が不可欠である。我々が開発した multiplex PCR や LAMP 法による遺伝子検査を含め、これまで他の研究者が報告した検査法は、ほとんど全てがミトコンドリア遺伝子を対象としている。しかし、我々はこれまでの海外調査において、無鉤条虫とアジア条虫が混在している地域では、両種の交雑が起こっていることを発見している。交雑体あるいは交雑体由来の虫体 (交雑体の子孫) では、核遺伝子が混ざり合っているため、ミトコンドリアから推定された種の間宿主と、実際の間宿主が必ずしも一致しているとは限らない。我々が発見した交雑体由来虫体の中間宿主も不明なままである。また、ヒトのテニア症は我が国には定着しておらず、輸入感染症でのみ発見されると一般に考えられていた。ところが、平成 22 年度には、我が国においてもテニア症の集団発生がみとめられた。ミトコンドリアや 2~3 の核遺伝子を用いた診断でそれらは全てアジア条虫と同定されているが、もしそれらの虫体が交雑体由来なら、「アジア条虫の中間宿主であるブタ」が感染源であったとは限らないことになる。実際、患者の多くは「ブタの生食」を否定しており、その感染源については今のところ全く分かっていない。このように、「食の安全」を確保するためには、「無鉤条虫とアジア条虫の交雑」の問題を解決する必要がある。

2. 研究の目的

研究代表者らのグループは、長年にわたりヒトを終宿主とする3種のテニア属条虫についての研究を実施してきた。この中で、有鉤条虫については、ヒトおよび家畜の感染を確実に検出できる遺伝子・免疫検査系を確立し、現在実際の流行地におけるリスク評価を行う段階に達している。これに対して、無鉤条虫とアジア条虫については実験室レベルでの遺伝子・免疫診断法は開発しているが、実際に流行地で応用する段階には至っていない。本研究課題の第1の目的は、流行地で活用できる、ウシ無鉤条虫症とブタアジア条虫症に対する迅速検査法を開発することにあ

る。また、これまでの研究の課程で、無鉤条虫とアジア条虫の交雑体が複数個体発見されており、単純な検査法では両者の適確な診断が不可能であることが判明している。第2の目的は、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析により、両種の宿主特異性を規定している遺伝子を同定し、交雑の問題を解決することにある。

3. 研究の方法

タイ・カンチャナブリ州、中国四川省チベット高原、バリ島でヒトおよび家畜の疫学調査を実施した。主に人からとれた成虫について、形態から無鉤条虫またはアジア条虫と思われるものについて、ミトコンドリアの *cox1* 遺伝子、核の *ef1*、*elp*、*pold* 遺伝子について、塩基配列を決定した。また、国内外の共同研究者から入手した、フィリピン、台湾、ベトナム、韓国、沖縄、エクアドル等のヒト由来サンプルについても、同様に塩基を決定し、系統解析を実施した。

4. 研究成果

ヒトから採集されたテニア属条虫の幼虫について、ミトコンドリアの *cox1* 遺伝子と二つの核の遺伝子 (*ef1* と *elp*) の塩基配列を決定し、系統解析をおこなった。その結果、一部の虫体でミトコンドリアの遺伝子と核の遺伝子の系統関係に不一致がみられた。条虫は自家受精するので、核の遺伝子でヘテロ個体のみがみられた事実は、アジア条虫と無鉤条虫の交雑が最近の出来事であることを示唆している。さらに、これらのサンプルの *pold* 遺伝子を調べたところ、*cox1* 遺伝子の解析ではアジア条虫であるとされた虫体のほとんど全てが、無鉤条虫にみられる対立遺伝子から1塩基だけ変異した遺伝子をホモに持っていた。このことは、ミトコンドリアの解析からアジア条虫であると判断されていたほとんどの成虫が、実際には純粋なアジア条虫と純粋な無鉤条虫の交雑体由来であることを示している。無鉤条虫の中間宿主はウシ、アジア条虫の中間宿主はブタとされているが、その交雑体の中間宿主については全く情報が無い。ヒトのテニア症のコントロールのためには、この交雑体の中間宿主について、確認する必要があると思われる。

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 14 件)

Wandra T, Swastika K, Dharmawan NS, Purba IE, I Sudarmaja M, Yoshida T, Sako Y, Okamoto M, Putu NL, Diatthini E, Laksemi DA AS, Yanagida T, Nakao M, Ito A.. (2015) The present situation and towards the prevention and control of neurocysticercosis on the tropical island,

Bali, Indonesia. *Parasites & Vectors* 2015, 8:148、查読有
<http://dx.doi:10.1186/s13071-015-0755-z>
Hailemariam Z, Nakao M, Menkir S, Lavikainen A, Iwakia T, Yanagida T, Okamoto M, Ito A. (2014) Molecular identification of species of *Taenia* causing bovine cysticercosis in Ethiopia. *Journal of Helminthology* 88(3), 376-380. September J Helminthol. 2014 Sep;88(3):376-80、查読有。
<http://dx.doi:10.1017/S0022149X13000138>. Epub 2013 Mar 4.
Terefe Y, Hailemariam Z, Menkir S, Nakao M, Lavikainen A, Haukisalmi V, Iwaki T, Okamoto M, Ito A. (2014) Phylogenetic characterisation of *Taenia* tapeworms in spotted hyenas and reconsideration of the “Out of Africa” hypothesis of *Taenia* in humans. *International Journal of Parasitology* 44(8), 533-541. July Int J Parasitol. 2014 Jul;44(8):533-41、查読有。
<http://dx.doi:10.1016/j.ijpara.2014.03.013>. Epub 2014 May 9.
Wandra Toni, Ito Akira, Swastika Kadek, Nyoman S Dharmawan, Yasuhito Sako and Munehiro Okamoto (2013) Taeniasis and cysticercosis in Indonesia: past and present situations. *Parasitology* 140, SI:1608-1616、查読有。
<http://dx.doi:10.1017/S0031182013000863>
Li Tiaoying, Chen Xingwang, Yanagida Tetsuya, Hao Wang, Changping Long, Yasuhito Sako, Munehiro Okamoto, Yunfei Wu, Minoru Nakao, Philip S Craig and Akira Ito. (2013) Detection of human taeniasis in Tibetan endemic areas, China. *Parasitology* 140, SI:1602-1607、查読有。
<http://dx.doi:10.1017/S003118201300111X>.
Yamane Kanako, Yanagida Tetsuya, Li Tiaoying, Xingwang Chen, Paron Dekumyoy, Jitra Waikkgul, Agathe Nkouawa, Minoru Nakao, Yasuhito Sako, Akira Ito, Hiroshi Sato and Munehiro Okamoto. (2013) Genotypic relationships between *Taenia saginata*, *Taenia asiatica* and their hybrids. *Parasitology* 140, SI:1595-1601、查読有。
<http://dx.doi:10.1017/S0031182013001273>.
Sako Yasuhito, Itoh Sonoyo, Okamoto Munehiro, Kazuhiro Nakaya and Akira Ito. (2013) Simple and reliable preparation of immunodiagnostic antigens for *Taenia solium* cysticercosis. *Parasitology* 140, SI:1589-1594、查読有。

<http://dx.doi:10.1017/S0031182013000978>
Raoul Francis, Li, Tiaoying, Sako Yasuhito, Xingwang Chen, Changping Long, Tetsuya Yanagida, Yunfei Wu, Minoru Nakao, Munehiro Okamoto, Philip S Craig, Patrick Giraudoux and Akira Ito. (2013) Advances in diagnosis and spatial analysis of cysticercosis and taeniasis. *Parasitology* 140, SI:1578-1588、查読有。
<http://dx.doi:10.1017/S0031182013001303>.
Masamichi Yamashita, Tomohiro Imagawa, Kazuhiro Nakaya, Yasuhito Sako, Yoshiharu Okamoto, Takeshi Tsuka, Tomohiro Osaki, Munehiro Okamoto, Akira Ito. (2013) *Echinococcus multilocularis*: Single hepatic lesion experimentally established without metastasis in rats. *Experimental Parasitology* 135, 320-324、查読有。
<http://dx.doi:10.1016/j.exppara.2013.07.015>.
Ito A, Li T, Chen X, Long C, Yanagida T, Nakao M, Sako Y, Okamoto M, Wu Y, Raoul F, Giraudoux P, Craig PS. (2013) Mini review on chemotherapy of taeniasis and cysticercosis due to *Taenia solium* in Asia, and a case report with 20 tapeworms in China. *Tropical Biomedicine* 30, 164-173、查読有。
http://www.msptm.org/files/164_-173_Ito_A.pdf
Minoru Nakao, Antti Lavikainen, Takashi Iwaki, Voitto Haukisalmi, Sergey Konyaev, Yuzaburo Oku, Munehiro Okamoto, Akira Ito. (2013) Molecular phylogeny of the genus *Taenia* (Cestoda: Taeniidae): Proposals for the resurrection of *Hydatigera Lamarck*, 1816 and the creation of a new genus *Versteria*. *International Journal for Parasitology* 43(6) 427-437、查読有。
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.11.014>
Li T, Ito A, Chen X, Long C, Okamoto M, Raoul F, Giraudoux P, Yanagida T, Nakao M, Sako Y, Xiao N and Craig PS. (2013) Usefulness of pumpkin seeds combined with areca nut extract in community-based treatment of human taeniasis in northwest Sichuan Province, China. *Acta Tropica* 43, 427-434、查読有。
<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.08.002>
Nkouawa A, Sako Y, Li T, Chen X, Nakao M, Yanagida T, Okamoto M, Giraudoux P, Raoul F, Nakaya K, Xiao N, Qiu J, Qiu D, Craig PS and Ito A. (2013) A loop-mediated isothermal amplification method for a differential identification of *Taenia* tapeworms from human:

Application to a field survey. *Parasitology International* 61, 2012 152-157、査読有。
<http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2012.06.001>

Yanagida T, Mohammadzadeh T, Kamhawi S, Nakao M, Sadjjadi SM, Hijjawi N, Abdel-Hafez SK, Sako Y, Okamoto M and Ito A. (2013) Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in the Middle East. *Parasitology International* 61, 2012, 599-603、査読有。
<http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2012.05.014>

〔学会発表〕(計 14 件)

Munehiro Okamoto, The species problem of *Taenia asiatica* and differentiation of three human taeniid species. Joint International Tropical Medicine Meeting 2014. (招待講演) 2014/12/3, Centra Grand & Bangkok Convention Center at CentralWorld, Bangkok, Thailand.

Munehiro Okamoto, Genetic relationship between *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. Strengthening of Prevention and Control Program of Taeniasis/Neurocysticercosis (T/NCC) in Bali, Indonesia. (招待講演) 2014/9/22, Udayana University, Bali, Indonesia.

岡本宗裕、山根香菜子、中尾稔、柳田哲矢、迫康仁、伊藤亮、アジア条虫 *Taenia asiatica* と無鉤条虫 *Taenia saginata* の遺伝的關係、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014/9/9, 北海道大学。

Akira Ito and Munehiro Okamoto and the working group in Asia

Chaotic situation of taeniasis and cysticercosis as neglected tropical or zoonotic diseases in Asia.

6th ASEAN Congress of Tropical Medicine and Parasitology, 2014/5/5, Kuala Lumpur, Malaysia.

Dekumyoy P, Kusolsuk T, Pakdee W, Sa-nguankiat S, Chaisiri K, Homsuwan N, Yanagida T, Sako Y, Nakao M, Okamoto M, Ito A. Joint Projects on taeniasis and cysticercosis in Thailand. Joint International Tropical Medicine Meeting 2012. (招待講演) 2012/12/13, Centra Grand & Bangkok Convention Center at CentralWorld, Bangkok, Thailand.

Munehiro Okamoto. Molecular re evaluation of *Taenia asiatica*. Joint International Tropical Medicine Meeting 2012. (招待講演) 2012/12/13, Centra Grand & Bangkok Convention Center at CentralWorld, Bangkok, Thailand.

Yamasaki H, Muto M, Morishima Y,

Sugiyama H, Okamoto M. Outbreak of *Taenia asiatica* infection in Japan. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Li, T, Ito A, Chen X, Lon C, Okamoto M, Raoul F, Giradoux P, Yanagida T, Nakao M, Sako Y, Xiao N, Craig P. Usefulness of pumpkin seeds combined with areca nut extract in community-based treatment of human taeniasis in Northwest Sichuan Province, China. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Dekumyoy P, Kusolsuk T, Sa-nguankiat S, Chaisiri K, Homsuwan N, Yanagida T, Sako Y, Nakao M, Okamoto M, Ito A. Taeniasis and Cysticercosis on the Thai-Myanmar border: an update. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Dharmawan NS, Swastica K, Suardita IK, Kepeng IN, Sako Y, Okamoto M, Yanagida T, Wandra T, Ito A. Pig cysticercosis in Karagasem, Bali, Indonesia. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Wandra T, Swastica K, Dharmawan NS, Sako Y, Okamoto M, Ito A. Overview of the present situation of taeniasis/cysticercosis in Indonesia. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Swastica K, Wandra T, Sudarmaja M, Dharmawan NS, Laksemi DS, Diarthini LPE, Yanagida T, Sako Y, Okamoto M, Ito A. Taeniasis/cysticercosis in Karagasem, Bali, Indonesia. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Raoul F, Giradoux P, Li T, Yanagida T, Lon C, Chen X, Okamoto M, Nakao M, Sako Y, Ito A. Taeniasis/cysticercosis in farmer communities of Western Sichuan, China: a spatial study. International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

Okamoto M, Li T, Chen X, Anantaphruti MT, Waikagul J, Yanagida T, Nakao M, Sako Y, Ito A. What is *Taenia asiatica*? International Symposium of Cestode Zoonoses Control. 2012/10/29, Paradise Hotel, Shanghai, China.

〔図書〕(計 1 件)

Munehiro Okamoto and Akira Ito. 2012.

Taenia in Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens, Section III Platyhelminthes: Cestoda, Chapter 27. 871pp

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本宗裕 (OKAMOTO Munehiro)

京都大学・霊長類研究所・教授

研究者番号：70177096

(2) 研究分担者

迫 康仁 (SAKO Yasuhito)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：40312459

柳田哲矢 (YANAGIDA Tetsuya)

山口大学・共同獣医学部・准教授

研究者番号：40431837

(3) 連携研究者

岡本芳晴 (OKAMOTO Yoshiharu)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：50154410

松井 淳 (Matsui Atsushi)

京都大学・霊長類研究所・研究員

研究者番号：70455476