

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（特設分野研究）

研究期間：2017～2019

課題番号：17KT0124

研究課題名（和文）質量分析計によるトキソプラズマ症の再活性化検出法及び重症度の評価法の確立

研究課題名（英文）Establishment of the detection method for the reactivation of toxoplasmosis and the evaluation method for the severity of toxoplasmosis by mass spectrometer

研究代表者

野呂瀬 一美（NOROSE, Kazumi）

千葉大学・大学院医学研究院・特任准教授

研究者番号：30156244

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：トキソプラズマ症は原虫トキソプラズマ（本虫）感染で発症する。本虫は宿主の免疫状態により急増虫体あるいはシストを形成する緩増虫体とステージ変換を行うが、その関与因子を解析することは病原性や再発機序を解明する点で非常に重要である。今回、*in vitro*本虫感染実験を行い、培養条件を変化させステージ変換の動向を分析し、各々のステージの培養上清を冷凍保存し、質量分析計によるタンパク質レベルでの解析に備えた。*in vivo*感染実験ではマウスの急性期あるいは慢性期の血清を同様に保存した。さらに、全国の医療施設から送付された臨床検体の残余検体より、病勢に關与する因子の質量分析を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トキソプラズマ症は細胞内寄生虫のトキソプラズマによる感染症であり、世界中では人口の3分の1が感染しているとされる日和見感染症である。免疫状態の正常な人は無症状であるが、免疫不全状態の人は、トキソプラズマ症が再活性化したり、重症化し致死となることが問題となっている。トキソプラズマは宿主の免疫状態により、病原性の異なるステージ変換を行うが、それに関与する因子を質量分析計によりタンパク質レベルで解析することで、病原性や免疫不全状態での再発機序を解明でき、予後を左右する早期診断・早期治療につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：Toxoplasmosis is caused by the infection with the protozoan parasite, *Toxoplasma gondii*. As an important event in the pathogenesis of toxoplasmosis is the interconversion between the bradyzoite and the tachyzoite stage of *T. gondii* within the intermediate host, to analyze the factors that influence either cyst formation or reactivation is essential. In this report, we analyzed the stage conversion *in vitro* by changing the condition of medium and the culture supernatant was stored for protein level analysis by mass spectrometry. For *in vivo* analysis, mice were infected and serum were stored at the acute and chronic stages for the further analysis by mass spectrometry. In addition, residual samples from hospitals for diagnosis of toxoplasmosis were classified according to the severity of the disease for the analysis by mass spectrometry.

研究分野：寄生虫学

キーワード：トキソプラズマ症 質量分析 再活性化 重症化

## 1. 研究開始当初の背景

トキソプラズマ症は細胞内寄生原虫であるトキソプラズマによって引き起こされる日和見感染症の一つである。世界人口の約三分の一は本原虫に感染しており、日本においても10~30%が既感染である。本原虫症は免疫抑制状態での再活性化が臨床現場で大きな問題となっている。即ち、健常者が本原虫に感染した場合、本原虫は休眠型の嚢子(シスト:緩増虫体を蔵する)を形成することにより宿主の防御免疫から逃れ、根治されずに不顕性感染となる。しかし、宿主が免疫不全に陥ると(AIDS患者や臓器移植患者等)、緩増虫体は急増虫体へとステージ変換し(再活性化)、局所で臓器機能不全を引き起こし致命的となる。

トキソプラズマ症は非定型的病態を呈し、かつ既感染であるが不顕性の感染者が多いことから、抗体価測定のみで確定診断することは困難であり、治療方針の決定が遅延することによる重症化さらには致死に陥ることが問題となる。そこで、再活性化の前兆の早期検出や治療前後における再活性化の鎮圧状況及び虫体数の変動(重症度)の把握が非常に重要となる。診断には、従来は抗トキソプラズマIgG及びIgM抗体価の測定による血清学的診断に加え、血液や脳脊髄液等から虫体DNAを検出するpolymerase chain reaction(PCR)法による確定診断に依ってきた。しかし、免疫不全患者の場合、抗体価の数値は必ずしも感染症の病勢を表しているとは限らず、さらにPCR法は臨床検体の検出感度が50~70%とそれほど高くなく、PCR陰性であっても局所に虫体が存在していないとは断言できない。そのため、感染臓器局所の生検試料の採取が必要となってくるが、患者の体に大きな負担を強いることがあり時として困難である。実際に我々は、造血幹細胞移植を受けた患者において虫体が再活性化した6例を経験し、これら6症例のうち救命し得たのは早期に確定診断・治療できた1例のみであった(参考文献1)。以上の状況から、PCR診断から脱却した、血液、尿、唾液など非侵襲的に採材が可能な検体を用いた新規トキソプラズマ検出技術の開発や再活性化の早期検出法・重症化判定の指標の確立が望まれている。

近年、質量分析法を用いたプロテオーム解析による癌や細菌感染症の診断に向けた研究が加速し、一部は実用化されている。質量分析計を用いた診断の利点としては、(i)血液、尿、唾液をはじめ非侵襲的採材による検体での検査が可能であること、(ii)少量のサンプル量でも解析が可能であること、(iii)解析標的タンパク質が判明している場合には短時間で検出が可能なおこと、等が挙げられる。

## 2. 研究の目的

トキソプラズマは、宿主が免疫抑制状態に陥った時に、緩増虫体から急増虫体へとステージ変換を行い、再活性化する。このステージ変換に關与する因子を質量分析法でタンパク質レベルで解析し、従来のPCR法とは異なる新規診断法を確立し、再活性化を早期に検出することが本研究の目的である。さらに、質量分析法によって迅速かつ重症度判定が可能なトキソプラズマ症に特異的に検出されるタンパク質の同定を行うことで重症度の評価法を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) トキソプラズマのステージ変換に關与するPH濃度

インターフェロンガンマノックアウト(GKO)マウスの胎児皮膚より繊維芽細胞を得、細胞培養プレートで培養し、プレート全面に細胞が生着・増殖するのを確認後、次の2つの実験を行った。

シスト形成能を有するトキソプラズマの深谷株をGKOマウスに感染させ、7日後、急増虫体が存在する腸管リンパ節を摘出し、細切しGKOマウス胎児繊維芽細胞に感染させ、顕微鏡下でシスト(緩増虫体)が形成されるかどうかを観察した。さらに、培養液のPHを種々に変化させ、シスト形成までの日数とPHとの関連を解析した。

野生型マウスに感染させて得た深谷株の脳内シスト(緩増虫体)を比重遠心法で得、GKOマウス胎児繊維芽細胞と共培養した。緩増虫体が急増虫体にステージ変換し、GKOマウス胎児繊維芽細胞に感染するのを観察した。さらに、培養液のPHを種々に変化させ、シストから緩増虫体が放出され、繊維芽細胞に感染するまでの日数を解析した。

様々なPHの培養液で培養したトキソプラズマ感染GK0マウス胎児繊維芽細胞から継時的に mRNAを抽出し、cDNAを作成し、*GAPDH*遺伝子を内的コントロールとして、*SAG1*遺伝子（急増虫体のマーカー）あるいは*BAG1*遺伝子（緩増虫体のマーカー）の発現を解析した。

## （2）急増虫体あるいは緩増虫体の培養上清中、及びそれぞれのステージの感染マウス血清中のタンパク質の網羅的解析

*in vitro*実験：GK0マウスの胎児繊維芽細胞をフィーダー細胞として、シスト形成能の無いトキソプラズマのRH株を用いて急増虫体のみを培養、およびシスト形成能のある深谷株を長期培養することによりシストを形成させ、それらの培養上清中のタンパク質の網羅的解析をするべくその夫々の培養上清を-80度に保存した。

*in vitro*実験：GK0マウスの胎児繊維芽細胞をフィーダー細胞とし、シスト形成能のある深谷株を感染させたGK0マウスの腸管リンパ節（急増虫体が存在）をPH7.2の培養液中で共培養し、急増虫体ステージの培養上清を収集した。さらに、PH8.1の培養液で培養することでシストを形成させ、その培養上清を収集し-80度に保存した。

*in vitro*実験：急増虫体ではウミシイタケルシフェラーゼ発光色（内部コントロール用）を、緩増虫体ではホタルルシフェラーゼ発光色を発色するトキソプラズマPLK/DLUC\_1C9（参考文献2）とVero細胞を用いて、培養液のPHの変化や、アンモニウム ピロリジンジチオカルバメートを添加する等の様々な条件下で共培養し、ステージ変換しているかどうかを蛍光顕微鏡及びDual-Luciferase Reporter Assay System (Promega)とルミノメーターを用いて*in vitro*で実証した。

さらに夫々のステージ変換が確認された時の培養上清を集め、-80度に保存した。

*in vivo*実験：上記細胞培養上清中のタンパク質がトキソプラズマ感染マウス血清中に存在するかどうかを検証するべくGK0マウスに深谷株を感染させ、感染後10日に急増虫体が増殖している血清を収集した。また、野生型C57BL/6マウスにも深谷株を感染させ、シストを形成している感染一か月後に血清を収集し、今後の質量分析試料として-80度に保存した。

## （3）トキソプラズマ症の臨床検体（血清・髄液等）のタンパク質の網羅的解析と臨床像との比較

研究室で保管している全国の医療施設からトキソプラズマ症診断のために送られてくる検体の診断残余検体を用いて、*in vitro*培養系で絞り込んだタンパク質をもとに比較解析を行い、それらの特定のタンパク質がトキソプラズマ症の重症度判定のマーカーとして使用可能かどうか検証しつつある。

最終的には、臨床検体に付されている患者の病歴・予後情報をもとに本疾病重症度を判定し、質量分析データで得られた再活性化・重症度に関連したタンパク質との関連性を明らかにする。

## 4. 研究成果

（1） GK0マウスに感染させて得られた深谷株の急増虫体は、GK0マウス胎児繊維芽細胞に感染させると約1～2週間経過後、顕微鏡下でシストが確認された。特に培養液のPHを酸性（PH 6.2）あるいはアルカリ性（PH 8.1）にした場合にシスト形成能が早い傾向がみられた。急増虫体マーカーの*SAG1*遺伝子発現あるいは緩増虫体マーカーの*BAG1*遺伝子発現の解析からもその傾向は確認された。

（2）野生型C57BL/6マウスに感染させてその脳内から得られた深谷株のシスト（緩増虫体）をGK0マウス胎児繊維芽細胞に感染させると約3日～4日で急増虫体にステージ変換するのを顕微鏡下で確認した。培養液のPHを種々に変化させて、このステージ変換を観察したところ、PHが中性（PH 7.2）の場合に早期に急増虫体へとステージ変換した。このことは（1）と同様に遺伝子発現の解析からも確認された。

（3）以上より、深谷株がステージ変換するPH及びステージ変換までの日数が明らかになったので、深谷株の急増虫体の時期あるいは緩増虫体の時期の培養上清を収集し、質量分析計

(LTQ-Orbitrap XL、Thermo Scientific 社)での解析を計画していたが、新型コロナウイルス感染症が流行したため、計画は中断を余儀なくされている。

(4) 急増虫体と緩増虫体とで異なる色のルシフェラーゼ発光色を発色するトキソプラズマ PLK/DLUC\_1C9の培養液のPHを変化させたり、アンモニウム ピロリジンジチオカルバメートを添加し、急増虫体から緩増虫体にステージ変換しているのを、Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega)とルミノメーターで分析したが、その発色強度が非常に弱く、確認が困難となっている。現在、その原因を探っている。

(5) 臨床検体は研究期間の3年間で164検体を受け入れ、トキソプラズマのPCR診断を行った。それらの臨床経過より重症度を分類化した。さらに、過去PCR陽性であった約40症例の重症度を分類化し、現在、それらの血清タンパク質の質量分析に向けて準備段階にある。

#### 参考文献

1 . Sumi M, Norose K, Hikosaka K, Kaiume H, Takeda W, Kirihara T, Kurihara T, Sato K, Ueki T, Hiroshima Y, Kuraishi H, Watanabe M, Kobayashi H. Clinical characteristics and computed tomography findings of pulmonary toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2016 ;104(6):729-740

2 . Sugi T, Masatani T, Murakoshi F, Kawazu S, Kato K. Microplate assay for screening *Toxoplasma gondii* bradyzoite differentiation with DUAL luciferase assay. *Anal Biochem* 464; 9-11, 2014

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計45件（うち査読付論文 45件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 23件）

1. 著者名 Ikuno H, Ishikawa T, Norose K	4. 巻 -
2. 論文標題 Status of Strongyloidiasis in Japan 2000-2017	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Trop Med Hyg	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Yoshida M, Hoshioka Y, Makino Y, Kojima M, Horikoshi T, Mukai H, Hikosaka K, Norose K, Iwase H	4. 巻 -
2. 論文標題 Pseudo- 'Pneumosis intestinalis' sign: A case of parasite uniquely depicted on postmortem CT	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Forensic Imaging	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Shinjo N, Nakayama H, Ishimaru K, Hikosaka K, Mi-ichi F, Norose K, Yoshida H.	4. 巻 74
2. 論文標題 Hypericum erectum alcoholic extract inhibits Toxoplasma growth and Entamoeba encystation - an exploratory study on the anti-protozoan potential.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Nat Med.	6. 最初と最後の頁 294-305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-019-01369-6.	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 -
1. 著者名 Miyata N, Yoshimura Y, Hikosaka K, Norose K, Tachikawa N.	4. 巻 26
2. 論文標題 Desensitization to trimethoprim-sulfamethoxazole in a toxoplasmic encephalitis patient who was intolerant to conventional treatments.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Infect Chemother.	6. 最初と最後の頁 289-293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.10.008.	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 -

1. 著者名 Ajibaye O, Osuntoki AA, Balogun EO, Olukosi YA, Iwalokun BA, Oyebola KM, Hikosaka K, Watanabe YI, Ebiloma GU, Kita K, Amambua-Ngwa A.	4. 巻 19
2. 論文標題 Genetic polymorphisms in malaria vaccine candidate Plasmodium falciparum reticulocyte-binding protein homologue-5 among populations in Lagos, Nigeria.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Malar J.	6. 最初と最後の頁 6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12936-019-3096-0.	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 Seki M, Sato M, Takiwaki M, Takahashi K, Kikutani Y, Satoh M, Nomura F, Kuroda Y, Fukuzawa S.	4. 巻 34
2. 論文標題 A novel caged Cookson-type reagent toward a practical vitamin D derivatization method for mass spectrometric analyses.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rapid Commun Mass Spectrom	6. 最初と最後の頁 e8648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rcm.8648.	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 -

1. 著者名 Tsuchida S, Murata S, Miyabe A, Satoh M, Takiwaki M, Matsushita K, Nomura F.	4. 巻 26
2. 論文標題 An in-house centrifugation and membrane filtration technique for identifying microorganisms from positive blood culture bottles with high identification rates using matrix-assisted laser desorption ionization-Time-of-flight mass spectrometry: A preliminary report.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Infect Chemother.	6. 最初と最後の頁 266-271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.09.017.	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 -

1. 著者名 Ailiken G, Kitamura K, Hoshino T, Satoh M, Tanaka N, Minamoto T, Rahmutulla B, Kobayashi S, Kano M, Tanaka T, Kaneda A, Nomura F, Matsubara H, Matsushita K	4. 巻 9
2. 論文標題 Post-transcriptional regulation of BRG1 by FIR exon2 in gastric cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncogenesis	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41389-020-0205-4.	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 -

1. 著者名 太田 貴徳, 今永 博, 奥 誠道, 楠元 大岳, 杉尾 康浩, 田宮 貞史, 久保 安孝, 小川 亮介, 彦坂 健児, 野呂瀬 一美, 大野 裕樹	4. 巻 60
2. 論文標題 臍帯血移植後に多発性脳出血を来したトキソプラズマ関連中枢神経系血管炎	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 118-123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.60.118	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 -

1. 著者名 Matsubayashi M, Inaoka DK, Komatsuya K, Hatta T, Kawahara F, Sakamoto K, Hikosaka K, Yamagishi J, Sasai K, Shiba T, Harada S, Tsuji N, Kita K	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel characteristics of mitochondrial electron transport chain from Eimeria tenella.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes (Basel)	6. 最初と最後の頁 E29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes10010029.	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 -

1. 著者名 Ueda T, Tarui H, Kido N, Imaizumi K, Hikosaka K, Abe T, Minegishi D, Tada Y, Nakagawa M, Tanaka S, Omiya T, Morikaku K, Kawahara M, Kikuchi-Ueda T, Akuta T, Ono Y	4. 巻 111
2. 論文標題 The complete mitochondrial genome of Sarcoptes scabiei var. nyctereutis from the Japanese raccoon dog: Prediction and detection of two transfer RNAs (tRNA-A and tRNA-Y).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genomics	6. 最初と最後の頁 1183-1191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygeno.2018.09.002.	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 -

1. 著者名 Piao LX, Cheng JH, Aosai F, Zhao XD, Norose K, Jin XJ.	4. 巻 40
2. 論文標題 Cellular immunopathogenesis in primary Toxoplasma gondii infection during pregnancy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Parasite Immunol.	6. 最初と最後の頁 e12570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pim.12570.	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 鷺野 巧弥, 矢嶋 敬史郎, 福島 一彰, 佐々木 秀悟, 関谷 綾子, 関谷 紀貴, 柳澤 如樹, 野呂瀬一美, 味澤 篤, 今村 顕史.	4. 巻 92
2. 論文標題 原発性脳リンパ腫を合併したトキソプラズマ脳炎の再発例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 感染症学雑誌	6. 最初と最後の頁 696-700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Ueno H, Norose K, Kamimura T, Mihara K, Yamasaki F, Hikosaka K, J Amatyia V, Takeshima Y, Kurisu K, Maruyama H	4. 巻 58
2. 論文標題 Metastatic Malignant Lymphoma Mimicking Cerebral Toxoplasmosis with the "Target Sign"	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 1157-1162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.1156-18	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 -

1. 著者名 Mitsunaga T, Norose K, Aosai F, Horie H, Ohnuma N, Yano A	4. 巻 68
2. 論文標題 Infection dynamics of Toxoplasma gondii in gut-associated tissues after oral infection: The role of Peyer's patches.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parasitol Int	6. 最初と最後の頁 40-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2018.08.010	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 -

1. 著者名 Furuya H, Ikeda K, Iida K, Suzuki K, Furuta S, Tamachi T, Suzuki K, Miura G, Hiraguri M, Hase R, Hikosaka K, Norose K, Nakajima H	4. 巻 28
2. 論文標題 Disseminated toxoplasmosis with atypical symptoms which developed with exacerbation of systemic lupus erythematosus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Lupus	6. 最初と最後の頁 133-136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0961203318815583	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 -

1. 著者名 Ishige T, Itoga S, Kawasaki K, Utsuno E, Beppu M, Sawai S, Nishimura M, Ichikawa T, Nomura F, Matsushita K.	4. 巻 495
2. 論文標題 Evaluation of analytical factors associated with targeted MEFV gene sequencing using long-range PCR/massively parallel sequencing of whole blood DNA for molecular diagnosis of Familial Mediterranean fever.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 562-569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2019.06.001.	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 -

1. 著者名 Taguchi I, Yamada T, Akaishi R, Imoto I, Kurosawa K, Nakatani K, Nomura F, Hamanoue H, Hyodo M, Murakami H, Yoshihashi H, Yotsumoto J, Kosugi S	4. 巻 64
2. 論文標題 Attitudes of clinical geneticists and certified genetic counselors to genome editing and its clinical applications: A nation-wide questionnaire survey in Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Hum Genet	6. 最初と最後の頁 945-954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-019-0635-z.	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 -

1. 著者名 Yao Y, Nishimura M, Murayama K, Kuranobu N, Tojo S, Beppu M, Ishige T, Itoga S, Tsuchida S, Mori M, Takayanagi M, Yokoyama M, Yamagata K, Kishita Y, Okazaki Y, Nomura F, Matsushita K, Tanaka T.	4. 巻 9
2. 論文標題 A simple method for sequencing the whole human mitochondrial genome directly from samples and its application to genetic testing.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 17411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-53449-y.	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 -

1. 著者名 Ishige T, Itoga S, Kawasaki K, Sawai S, Nishimura M, Nomura F, Matsushita K.	4. 巻 587
2. 論文標題 Multiplex PCR and multicolor probes melting for the simultaneous detection of five UGT1A1 variants.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anal Biochem	6. 最初と最後の頁 113448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.113448	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 -

1. 著者名 Kobayashi S, Hiwasa T, Arasawa T, Kagaya A, Ishii S, Shimada H, Ito M, Suzuki M, Kano M, Rahmutulla B, Kitamura K, Sawabe Y, Shin H, Takiguchi M, Nomura F, Matsubara H, Matsushita K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of specific and common diagnostic antibody markers for gastrointestinal cancers by SEREX screening using testis cDNA phage library.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 18559-18569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.24963	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 -

1. 著者名 Kishida D, Yazaki M, Nakamura A, Nomura F, Kondo T, Uehara T, Ikusaka M, Ohya A, Watanabe N, Endo R, Kawaai S, Shimojima Y, Sekijima Y.	4. 巻 38
2. 論文標題 One novel and two uncommon MEFV mutations in Japanese patients with familial Mediterranean fever: a clinicogenetic study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Rheumatol Int	6. 最初と最後の頁 105-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00296-017-3886-z	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 -

1. 著者名 Miki T, Lee EY, Eguchi A, Sakurai K, Sawabe Y, Yoshida T, Saito K, Yokoh H, Ishikawa K, Yokote K, Kuzuya T, Miki E, Mori C, Nomura F.	4. 巻 9
2. 論文標題 Accelerated oligosaccharide absorption and altered serum metabolites during oral glucose tolerance test in young Japanese with impaired glucose tolerance.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig	6. 最初と最後の頁 512-521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.12719	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 -

1. 著者名 Ogura Y, Hoshino T, Tanaka N, Ailiken G, Kobayashi S, Kitamura K, Rahmutulla B, Kano M, Murakami K, Akutsu Y, Nomura F, Itoga S, Matsubara H, Matsushita K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Disturbed alternative splicing of FIR (PUF60) directed cyclin E overexpression in esophageal cancers.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 22929-22944
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25149	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 -

1. 著者名 Nomura F, Kanda T, Seimiya M, Satoh M, Kageyama Y, Yamashita T, Yokosuka O, Kato N, Maruyama K.	4. 巻 485
2. 論文標題 Determination of serum carbohydrate-deficient transferrin by a nephelometric immunoassay for differential diagnosis of alcoholic and non-alcoholic liver diseases.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 181-186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2018.06.040	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 -

1. 著者名 Sogawa K, Takahashi Y, Shibata Y, Satoh M, Koderu Y, Nomura F, Tanaka T, Sato H, Yamaide F, Nakano T, Iwahashi K, Sugita-Konishi Y, Shimada A, Shimojo N.	4. 巻 176
2. 論文標題 Search for a Novel Allergen in Hen's Egg Allergy Using an IgE Immunoblotting Assay.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int Arch Allergy Immunol	6. 最初と最後の頁 189-197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000488144	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 -

1. 著者名 Takeuchi N, Segawa S, Ishiwada N, Ohkusu M, Tsuchida S, Satoh M, Matsushita K, Nomura F	4. 巻 24
2. 論文標題 Capsular serotyping of Haemophilus influenzae by using matrix-associated laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 510-514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2018.02.007	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 -

1. 著者名 Tsuchida S, Murata S, Miyabe A, Satoh M, Takiwaki M, Ashizawa K, Terada T, Ito D, Matsushita K, Nomura F	4. 巻 152
2. 論文標題 Application of the biocopolymer preparation system, rapid BACpro&reg; II kit, for mass-spectrometry-based bacterial identification from positive blood culture bottles by the MALDI Biotyper system.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Microbiol Methods	6. 最初と最後の頁 86-91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mimet.2018.07.017	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 -

1. 著者名 Ihara H, Kiuchi S, Ishige T, Nishimura M, Matsushita K, Satoh M, Nomura F, Yamashita M, Kitajima I, Tsugawa N, Okano T, Hirota K, Miura M, Totani M, Hashizume N.	4. 巻 55
2. 論文標題 Surveillance evaluation of the standardization of assay values for serum total 25-hydroxyvitamin D concentration in Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Clin Biochem	6. 最初と最後の頁 647-656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0004563218765570	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 -

1. 著者名 Ishige T, Satoh M, Itoga S, Nishimura M, Matsushita K, Nomura F	4. 巻 487
2. 論文標題 High-throughput genotyping of GC (vitamin D-binding protein) by melting analysis with locked nucleic acid-incorporating dual hybridization probe for improving mismatch discrimination.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 126-132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2018.09.034	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 -

1. 著者名 Tsuchida S, Satoh M, Takiwaki M, Nomura F	4. 巻 20
2. 論文標題 Current Status of Proteomic Technologies for Discovering and Identifying Gingival Crevicular Fluid Biomarkers for Periodontal Disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20010086	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 -

1. 著者名 Yoshimura Y, Hibi R, Nakata A, Togashi M, Ogawa S, Ishige T, Satoh M, Nomura F, Higashi T.	4. 巻 33
2. 論文標題 Identification of conjugation positions of urinary glucuronidated vitamin D3 metabolites by LC/ESI-MS/MS after conversion to MS/MS-fragmentable derivatives.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomed Chromatogr	6. 最初と最後の頁 e4538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bmc.4538	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 -

1. 著者名 Kobayashi S, Hiwasa T, Ishige T, Rahmutulla B, Kano M, Hoshino T, Minamoto T, Shimada H, Nomura F, Matsubara H, Matsushita K.	4. 巻 110
2. 論文標題 Anti-FIR exon2, a splicing variant form of PUF60, auto-antibody is detected in the sera of esophageal squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 2004-2013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14024	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 -

1. 著者名 Fukumoto T, Oka M, Masaki T, Sakaguchi M, Fukunaga A, Norose K, Sarayama Y, Imai H, Nishigori C.	4. 巻 27
2. 論文標題 Cutaneous Rosai-Dorfman disease associated with uveitis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 85-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2016.2885	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 -

1. 著者名 Feng X, Norose K, Li K, Hikosaka K.	4. 巻 141
2. 論文標題 Utility of the cytochrome c oxidase subunit I gene for the diagnosis of toxoplasmosis using PCR.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Microbiol Methods.	6. 最初と最後の頁 82-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mimet.2017.08.001.	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 -

1. 著者名 Nakajima N, Fukumoto T, Kozaru T, Sakaguchi M, Norose K, Oka M.	4. 巻 27
2. 論文標題 Rosai-Dorfman disease and uveitis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 535-536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2017.3075.	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 -

1. 著者名 Matsuura J, Fujii A, Mizuta I, Norose K, Mizuno T.	4. 巻 57
2. 論文標題 Cerebral toxoplasmosis diagnosed by nested-polymerase chain reaction in a patient with rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 1463-1468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.0139-17.	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 -

1. 著者名 Tsuchida S, Murata S, Miyabe A, Satoh M, Takiwaki M, Matsushita K, Nomura F.	4. 巻 148
2. 論文標題 An improved in-house lysis-filtration protocol for bacterial identification from positive blood culture bottles with high identification rates by MALDI-TOF MS.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Microbiol Methods.	6. 最初と最後の頁 40-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mimet.2018.03.014.	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 -

1. 著者名 Tsuchida S, Satoh M, Umemura H, Sogawa K, Takiwaki M, Ishige T, Miyabayashi Y, Iwasawa Y, Kobayashi S, Beppu M, Nishimura M, Koderu Y, Matsushita K, Nomura F	4. 巻 12
2. 論文標題 Assessment by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry of the Effects of Preanalytical Variables on Serum Peptidome Profiles Following Long-Term Sample Storage.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proteomics Clin Appl	6. 最初と最後の頁 e1700047
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prca.201700047	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 -

1. 著者名 Ishige T, Itoga S, Utsuno E, Nishimura M, Yoshikawa M, Kato N, Matsushita K, Yokosuka O, Nomura F	4. 巻 55
2. 論文標題 Variant in C-terminal region of intestinal alkaline phosphatase associated with benign familial hyperphosphatasaemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Med Genet.	6. 最初と最後の頁 701-704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jmedgenet-2017-104964	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 -

1. 著者名 Kikuchi-Ueda T, Kamoshida G, Ubagai T, Nakano R, Nakano A, Akuta T, Hikosaka K, Tansho-Nagakawa S, Kikuchi H, Ono Y.	4. 巻 222
2. 論文標題 The TNF- of mast cells induces pro-inflammatory responses during infection with Acinetobacter baumannii.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Immunobiol	6. 最初と最後の頁 1025-1034
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 0.1016/j.imbio.2017.05.015	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 -

1. 著者名 Kimura A, Kitamura K, Ailiken G, Satoh M, Minamoto T, Tanaka N, Nomura F, Matsushita K	4. 巻 8
2. 論文標題 FIR haplodeficiency promotes splicing to pyruvate kinase M2 in mice thymic lymphoma tissues revealed by six-plex tandem mass tag quantitative proteomic analysis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 67955-67965
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.19061	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 -

1. 著者名 Ishige T, Satoh M, Ogawa S, Nishimura M, Matsushita K, Higashi T, Nomura F.	4. 巻 473
2. 論文標題 Improved sensitivity of serum/plasma 1,25-dihydroxyvitamin D quantification by DAPTAD derivatization.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 173-179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2017.08.033	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 -

1. 著者名 Tsuchida S, Satoh M, Takiwaki M, Nomura F	4. 巻 18
2. 論文標題 Ubiquitination in Periodontal Disease: A Review	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 E1476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms18071476	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 -

1. 著者名 Satoh M, Takano S, Sogawa K, Noda K, Yoshitomi H, Ishibashi M, Mogushi K, Takizawa H, Otsuka M, Shimizu H, Miyazaki M, Nomura F	4. 巻 108
2. 論文標題 Immune-complex level of cofilin-1 in sera is associated with cancer progression and poor prognosis in pancreatic cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 795-803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13181	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 -

[学会発表] 計15件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 太田 貴徳, 楠元 大岳, 上野稔幸, 上原康文, 杉尾 康浩, 田宮 貞史, 彦坂 健児, 野呂瀬 一美, 大野 裕樹
2. 発表標題 臍帯血移植後に多発性脳出血を来したトキソプラズマ関連中枢神経系血管炎
3. 学会等名 第42回造血細胞移植学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinjyo N, Hikosaka K, Yoshida H, Norose K
2. 発表標題 Traditional Kampo formula (漢方) Scutellaria-Coptis (瀉心湯) is protective against Toxoplasma infection via synergistic immunomodulation.
3. 学会等名 第84回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hikosaka K, Feng X, Koyama Y, Norose K
2. 発表標題 PCR targeting the cytochrome c oxidase subunit 1 gene for clinical diagnosis of toxoplasmosis.
3. 学会等名 4th Africa international biotechnology and biomedical conference, AIBBC (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 彦坂健児、田中咲帆、馮 雪、篠田渉平、LiLi、Li Kexin、野呂瀬 一美
2. 発表標題 多摩川河口域に飛来する野鳥の腸管寄生虫感染状況の解明
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 李 可きん、馮 雪、彦坂健児、野呂瀬一美
2. 発表標題 眼トキソプラズマ症：マウスモデルにおける前房水中サイトカイン・ケモカイン解析 髄液および血清との比較
3. 学会等名 第86回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 馮 雪、Kexin Li、野呂瀬一美、彦坂健児
2. 発表標題 シトクロムc酸化酵素サブユニット1 遺伝子を標的としたPCRによる新規トキソプラズマ病診断法の検討
3. 学会等名 第86回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 星岡佑美、吉田真衣子、榎野陽介、彦坂健児、野呂瀬一美、岩瀬博太郎
2. 発表標題 法医解剖前CTにおいて小腸内に糸虫の存在が示唆された無鉤糸虫症の1例
3. 学会等名 第28回日本臨床寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古矢裕樹、鈴木一正、彦坂健児、古田俊介、池田啓、中島裕史、野呂瀬一美
2. 発表標題 全身性エリテマトーデス(SLE)再燃時に播種性トキソプラズマ症の診断に至った一例
3. 学会等名 第28回日本臨床寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮田順之、吉村幸浩、彦坂健児、野呂瀬一美、立川夏夫
2. 発表標題 Sulfamethoxazole-Trimethoprim(ST合剤)の脱感作により治療を継続できたトキソプラズマ脳炎(TE)の一例
3. 学会等名 第31回日本AIDS学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 生野 博、石川 敬、市村禎宏、野呂瀬一美
2. 発表標題 本邦における糞線虫症の現状と展望
3. 学会等名 Conbio 2017 生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北原茉莉、廣島由紀、植松望武、數本弘子、宍戸努、貝梅紘子、桐原健彦、武田航、植木俊充、住昌彦、上野真由美、市川直明、彦坂健児、野呂瀬一美、小林光
2. 発表標題 自家末梢血幹細胞移植後に発症したトキソプラズマ症の検討 - 臨床所見およびST合剤予防投与の効果 -
3. 学会等名 第40回 日本造血細胞移植学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松本佑慈、加勢田富士子、豊田一弘、村田昌之、野呂瀬一美、古庄憲浩
2. 発表標題 頸部リンパ節炎が長期間持続した急性トキソプラズマ症の一例
3. 学会等名 第92回日本感染症学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山村綾子、井上明威、徳永賢治、松野直史、野呂瀬一美、松岡雅雄
2. 発表標題 造血幹細胞移植後にトキソプラズマ脳炎を発症したMDS/AMLの一例
3. 学会等名 第40回造血細胞移植学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 彦坂健児、馮 雪、本間 一、松崎素道、元岡大佑、中村昇太、野呂瀬一美、北 潔
2. 発表標題 ディープシーケンスによるマラリア原虫のアトバコン耐性に関わる点変異の解析
3. 学会等名 第87回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 生野 博、石川 敬、野呂瀬一美
2. 発表標題 Strongyloidiasis in Japan: Current status and perspectives
3. 学会等名 第87回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 野呂瀬 一美	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2079
3. 書名 今日の診断指針	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>感染生体防御学  <a href="http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/infection-hostdefense/">http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/infection-hostdefense/</a></p>
---

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
研究分担者	彦坂 健児  (HIKOSAKA Kenji)  (30456933)	千葉大学・大学院医学研究院・講師   (12501)	
研究分担者	佐藤 守  (SATO Mamoru)  (20401002)	千葉大学・医学部附属病院・特任准教授   (12501)	
研究分担者	野村 文夫  (NOMURA Fumio)  (80164739)	千葉大学・医学部附属病院・特任教授   (12501)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力 者	住 昌彦  (SUMI Masahiko)		