

機関番号 : 15101

研究種目 : 基盤研究 (B)

研究期間 : 2008~2010

課題番号 : 20380164

研究課題名 (和文) 多包条虫の網羅的 cDNA 解析と寄生虫の増殖・分化の分子基盤とワクチン開発

研究課題名 (英文) *In silico* analysis of full-length rich cDNA library of *Echinococcus multilocularis*, molecular bases of the parasite growth and development, and vaccine development

研究代表者

奥 祐三郎 (OKU YUZABURO)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号 : 60133716

研究成果の概要 (和文) : 人において重篤な疾病を引き起こす多包条虫に関して、この寄生虫の幼虫 (12, 100 クローン) および成虫 (9, 500 クローン) の遺伝子 (mRNA) を網羅的にコンピューター解析した。診断・予防・治療などに利用可能と予想された分子 (テトラスパニン、糖蛋白など) については、実験で調べ、有効であることを確認した。遺伝子の機能解析のために、RNA 干渉法が様々な生物で利用されているが、我々は条虫の RNA 干渉法を確立した。

研究成果の概要 (英文) : *Echinococcus multilocularis* causes a severe disease in humans. We produced full-length rich cDNA libraries of larval and adult *E. multilocularis*. About 9, 500 clones and 12, 100 clones (excluding host DNA) were carried out 5' one-pass sequencing for the adult and the larva, respectively, and *in silico* analysis of the data were carried out. Several candidate molecules were examined in experiments, in the consequences, potency of tetraspanins and glycoproteins were suggested. RNA inference is a important method for the biological function analysis. We established this method in cestode parasite.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	8, 800, 000	2, 640, 000	11, 440, 000
2009 年度	3, 100, 000	930, 000	4, 030, 000
2010 年度	2, 900, 000	870, 000	3, 770, 000
年度			
年度			
総計	14, 800, 000	4, 440, 000	19, 240, 000

研究分野 : 獣医寄生虫学

科研費の分科・細目 : 畜産学・獣医学・応用獣医学

キーワード : (1) エキノコックス (2) 網羅的 cDNA ライブラリー (3) RNA 干渉 (4) 発育段階 (5) テトラスパニン (6) 組み換えワクチン (7) 糖蛋白 (8) *in silico* 解析

1. 研究開始当初の背景

(1) エキノコックス症 (多包虫症) は人において致死的な経過をたどる人獣共通感染症であり、北半球に広く分布し、大きな脅威となっている。長年にわたる北海道内のキツネの調査から、全道の流行地域の拡大と、キツネにおける感染率の増加 (約 40%) が確認され、今後の患者数の増加と本州への流行地域の

拡大が予想されている。

(2) 国内でも早急な対策が望まれており、駆虫薬入りベイト散布が試みられているが、より効果的なワクチン開発や診断法の改善が望まれている。

(3) 最近、欧米において、熱帯熱マラリア原虫を始めとする寄生原虫のゲノム解読が急速に進行し、我々は、熱帯熱マラリア原虫、

ネズミマラリア原虫、トキソプラズマ原虫を対象に全長 cDNA ライブラリを作成してきた。これまで、多包条虫については小規模のライブラリは作製されてきたが、今回のような大規模なライブラリはない。又、GeneBank に登録されてきたものは少数であった。今後のワクチン開発や診断法の改善のためにはさらなるライブラリ作成と解析が必要とされている。

2. 研究の目的

- (1)我々は、多包条虫の幼虫の完全長 cDNA ライブラリを作成してきたが、より多くの解析が必要であり、今後のワクチン開発や診断法の改善のためには成虫の完全長 cDNA ライブラリを作成が不可欠で、幼虫のデータとともに解析することにより、今後有用と思われる遺伝子の解析が、さらには、それら分子の有用性を実験で検討することが可能となる。
- (2)特に、分泌抗原および膜関連分子とその他の情報からワクチンおよび診断用抗原の候補を選択し、候補分子の有用性を検討することを目的とした。
- (3)それぞれの分子の機能を解析するために、条虫における RNA 干渉法を確立する必要がある。この RNA 干渉法を確立し、多包虫の増殖・文化に関連する遺伝子について調べることが目的とした。

3. 研究の方法

- (1)多包虫(幼虫)の cDNA ライブラリについて、さらに 1 万クローンについてワンパスシーケンスを行い、前回の結果と併せて *in silico* 解析した。
- (2)多包条虫(成虫)の全長 cDNA ライブラリの作成し、ワンパスシーケンスを行い、この結果を *in silico* 解析した。
 - (1)および(2)の *in silico* 解析では、相同性検索だけでなく、Spliced leader、糖蛋白、分泌/膜結合性、プロテアーゼ、等についても詳細に検討した。
- (3)多包虫原頭節および胚細胞を用いて、多数発現見られた Antigen B、増殖に関連すると考えられる 14-3-3、さらに人の診断用抗原としてもっとも注目されている AntigenII/3 などの分子について条虫における RNA 干渉法を確立するために、electroporation 法と Soaking 法において様々な条件について比較検討した。又、mRNA および蛋白の発現推移を

追った。

- (4)寄生虫の体表に存在することが予想され、かつ住血吸虫でワクチン効果が知られているテトラスパニン類については、その発現部位とワクチン効果を調べた。ワクチン効果はマウスに虫卵を経口投与し、その後の肝臓に定着した寄生虫の数を比較して、判定した。
- (5)多包虫成虫および幼虫のプロテオーム解析(2次元電気泳動)を行い、さらに糖蛋白についてはカラムで分離し Emgp89 の重要性和診断用抗原としての有用性を実験感染犬の血清を用いて感染後経時的に調べた。
- (6) cDNA ライブラリに含まれる宿主由来遺伝子を *in silico* 解析し、宿主免疫応答を解析した。

4. 研究成果

- (1)および(2)についてはまとめて記載する。成虫からは 9,500 クローン、幼虫からは 12,500 クローン得られ、両者で約 6,500 遺伝子が検出された。現在まで、1種とされていたエキノコックスの Spliced leader が、5種発見され、これらは様々な mRNA に含まれていた。

Brehm et al., (2000) reported a spliced leader.

CACCGTTAATCGGTCCTTACCTTGCAATTTTGTATG 36nt

At least 4 spliced leaders were found in our cDNA library.

A total of 498 clones (315 genes) contain these spliced leaders at 5'end.

SL1-1	(A)CCGTTAA-TCGGTCCTTACCTTGCAATTTTGTATG	(379 clones 76.1% 269 genes 85.6%)	(27 contigs in Em-genome project*)
SL1-2	(A)CCGTTAA-TCGGTCCTTACCTTGCAATTTTGTATG	(18 clones 3.6% 15 genes 5.3%)	(No contigs in Em-genome project)
SL2-1	(A)CCGATAAATCGGTCCTTGCCT-GCACTCTTGTATG	(32 clones 6.4% 29 genes 9.7%)	(2 contigs in Em-genome project)
SL2-2	(A)CCGATAAATCGGTCCTTACCT-GCACTTTTGTATG	(30クローン 6.0% 28 genes 9.7%)	(2 contigs in Em-genome project)
SL2-3	(A)CCGATAAATCGGTCCTTGCCT-GCACTTTTGTATG	(2クローン 0.4% 2 genes 0.7%)	(1 contigs in Em-genome project)
SL (others)		(37 clones 7.4% 31genes 10.4%)	

様々な主要抗原、熱ショック蛋白(18種)、ミトコンドリア large subunit ribosomal RNA (16S)、成虫特異的に発現する Solute Carrier

Top 20 genes (Frequently found cDNA)

Gene	No. of clones		
	Total	Adult	Larva
1 Antigen B EmAgB8/1	431	0	431
2 16S Large subunit ribosomal RNA Mitochondria	254	37	217
3 MAGSCEGGCCDFADCKCGDCKTKKGCSC..	236	0	236
4 Heat Shock protein 70 kDa 1	179	175	4
5 Phosphoenolpyruvate carboxykinase	143	32	111
6 MFGGWPCCSYPWKWPWTGVIQSGCGEKSA..	124	123	1
7 MSGGWWQQCEKFWGWSVVPQCGQWGW..	119	119	0
8 Alpha-glucosidase 1	93	89	4
9 MGTLQIFVLLTAHTFAYNYHYAAEDDSTTSKT..	93	0	93
10 Ag5 precursor (strypsin-2)	87	80	7
11 Antigen B EmAgB8/2	85	0	85
12 Solute Carrier Family 1 protein (Glutamate/neutral amino acid transporter) 2	81	81	0
13 Antigen B EmAgB8/3-2	79	1	78
14 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	76	14	62
15 Citrate synthase precursor	74	11	63
16 MSGGWWQQCEKFWGWSVVPQCGQWGW..	72	72	0
17 Antigen B EmAgB8/3-1	70	32	38
18 MEGGSCSSCSGNVFNTPFPYGNRMIVKIMYLL..	70	70	0
19 MSIAGYPRSGAFQRLFLSLSVYLVIRRLGPSEP..	68	0	68
20 Tubulin alpha-2 (3)	67	45	22

Family および成虫の様々な不明蛋白など、その他の遺伝子も含めて多包条虫の発育段階により顕著な差が有ることが示された。幼虫からは主要抗原である AntigenB 類が高頻度に認められ、AntigenB/3 については2種含まれることを発見した。その他の遺伝子も含めて多包条虫の発育段階により顕著な差が認められた。

Frequently found cDNA of Solute Carrier Family

cDNA	Adult	Larva	Total
Solute Carrier Family 1 Glutamate/neutral amino acid transporter [Taenia asiatica]	22	0	22
Solute Carrier Family 1 Glutamate/neutral amino acid transporter 2 [Taenia asiatica]	81	0	81
Solute Carrier Family 1 Glutamate/neutral amino acid transporter 3 [Taenia asiatica]	4	1	5
Solute Carrier Family 1 Sodium-dependent glutamate/aspartate transporter 3	8	1	9
Solute Carrier Family 2 Glucose transport protein	8	0	8
Solute Carrier Family 2 Glucose transporter TGP2 [Taenia solium]	6	0	6
Solute Carrier Family 5 Sodium-dependent multivitamin transporter	3	2	5
Solute Carrier Family 5 Sodium/glucose cotransporter [Crassostrea gigas]	24	0	24
Solute Carrier Family 6 Na ⁺ /Cl ⁻ dependent neurotransmitter transporter-like protein [Sc...	7	0	7
Solute Carrier Family 7 Amino acid permease [Taenia asiatica] 1	24	0	24
Solute Carrier Family 7 Amino acid permease [Taenia asiatica] 2	27	3	30
Solute Carrier Family 7 Amino acid permease [Taenia asiatica] 3	22	0	22
Solute Carrier Family 7 Amino acid permease [Taenia asiatica] 4	15	0	15
Solute Carrier Family 13 Sodium-dependent dicarboxylate transporter 2 [Xenopus laevis]	6	4	10
Solute Carrier Family 20 1-B Sodium-dependent phosphate transporter 1-B	12	2	14
Solute Carrier Family 25 Mitochondrial carrier, phosphate carrier [Mus musculus]	1	6	7
Solute Carrier Family 37 Glycero-3-phosphate transporter [Danio rerio]	2	5	7

Total of 63 cDNA of Solute Carriers were found.

プロテアーとしては Ag5 precursor like Trypsin-like serine protease、serine protease、Cathepsin L-like cysteine proteinase (EmCLP 1および2)、Cathepsin A、Cathepsin B、Cathepsin D-like aspartic protease、methionine aminopeptidase、Membrane-associated metalloproteinase、Proteasome (様々なサブユニット)、さらに Serine Protease Inhibitor (serpin) などが見つけられた。

多包虫cDNAライブラリーに見られたプロテアーゼ類 (in silico 解析結果) 1

(InterProScan およびMEROPSで検索)

システインプロテアーゼ類

Peptidase C1A Cathepsin B (1) 8.1e-138 [41-213] 8.1e-138 [240-348] 分送
 Peptidase C1A Cathepsin L-like EmCLP 2 (2) 5.0 [27-332] 分送
 Peptidase C1A Cathepsin L-like EmCLP (new) (3) 5.8e-123 [64-345] 分送
 Peptidase C13 Oxyphosphatidylinositolprotein transamidase (1) 3.3e-144 [18-285] 分送

セリンプロテアーゼ類

Peptidase S1A Ag5 precursor, Trypsin-like (活性中心の3残基中が欠損) (4) 5.5e-34 [31-247], 5.5e-34 [270-398], 5.5e-34 [384-481] 分送
 Peptidase S1B HtrA peptidase, HtrA peptidase (1) 5.3e-79 [36-207], 5.3e-79 [361-470] 分送
 Peptidase S1D Cathepsin A, Serine Carboxypeptidase (1) 4e-100 [12-282] 分送
 Peptidase S14 Clp protease (1) 1.1e-117 [48-228] 分送
 Peptidase S2B Prolycarboxypeptidase (3) 2.7e-154 [40-488] 分送

マイクロマルシグナルペプチドプロテアーゼ

Peptidase S29B signalase (eukaryote) 21 kDa component (5) 1.1e-109 [1-182] 調査済
 その他のサブユニット SPC21 (2) 8.8e-90 [14-90] 調査済
 SPC22/23 (3) 6.5e-52 [2-175] 調査済

メタロプロテアーゼ類

Peptidase M19B Peptidase (mitochondrial processing) beta (7) 5.5e-227 [65-471] 調査済
 Peptidase M20A Aminolysase (1) 6.4e-100 [59-262] 調査済
 Peptidase M24X Methionine aminopeptidase?, Proliferation-associated 204 (活性中心の残基5が欠損) (3) 7.8e-65 [79-272] 調査済
 Peptidase M24A Methionine aminopeptidase 1 (1) 1.24e-109 [169-407] 調査済
 Peptidase M24B Methionine aminopeptidase 2 (2) 4.5e-228 [2-344] 調査済
 Peptidase M35A CuxA Frayl Protease Stick4 (membrane-associated metalloproteinase) (4) 5.8e-109 [1-295] 調査済

アスパラギン酸プロテアーゼ類

Peptidase A1 Cathepsin D-like (3) 1.4e-168 [38-387] 調査済
 Peptidase A22B Peptidase (2) 1.6e-84 [114-364] 調査済

* はすでにEmとして登録されている

成虫および幼虫に特異的な主要診断用抗原である糖蛋白(特に TSES33/38 と Em2)にも多く見られた。

3) 条虫の遺伝子(分子)の機能を解析するため、RNA 干渉法を確立するための条件設定のため、ターゲット分子として幼虫で最も高頻度に認められた AntigenB/1 に注目し、原頭

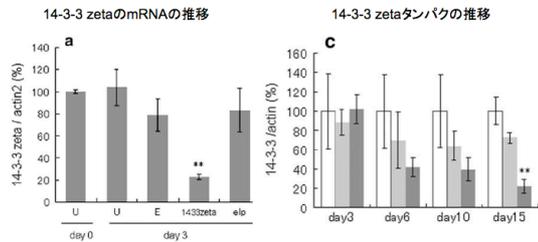
cDNA of glycoproteins frequently found

cDNA	Adult	Larvae	Total	N-gly	O-gly	Trans-membrane
MGTLQIFVLLLTHTAFYNNHYHYEAEDDSTTSKTTSTGGNT	0	93	93	0	11	TM
AEKTTQGMILLSPSTPLHLFTLSLLFTSYVLL	80	7	87	2	2	
Ag5 precursor strypsin-2	80	0	80	4	0	
Antigen TSES33 1 Diagnostic Antigen GP50b	42	0	42	8	0	
Antigen TSES33 2 Diagnostic Antigen GP50	0	41	41	16	16	
MRNPQRVLTLIAIIFNFQRCRAWLLYRDTFPSTTTIT	0	41	41	16	16	
AATETIPTTSSISLGP SHQATWLTWLFVWLLS...	0	33	33	1	130	Em2?
MWDSRGVAILLGIIVFENYQRCSSGLINQVWEHKLNTIE	0	33	33	1	130	Em2?
DKKDKDKTKTPEATTTTTTITPEITPTTTTTTTT...	17	16	33	0	10	
MAQRKEFVLSVLLKQLTINNGFHNEHYMGASELPLEGVG	18	8	26	2	6	
PTEYRGLSEPLATDASELPLEGQPTETPLGSE...	21	1	22	8	19	EmA9?
Antigen TSES38 [Schistosoma japonicum]	2	13	15	0	1	
Antigen TSES38 [Taenia solium] 1	2	13	15	0	1	
MPVLCILLIALHAFASAVTLKEGLADKEKYIFDYTSFNVGLH	0	13	13	1	0	TM
AGLALLITYGVLTGTFPTSPMIITKALEKRRKRSSL...	0	13	13	1	0	TM
MNHWLCLCSLVATFLFVAVGYDVGWGGSSLSNGLRV	0	13	13	1	0	TM
HLVYTGALLTLAGLVFSSLLLEKVCNCSGSA...	10	1	11	2	3	
Malate-Synt MLHLKMQIGSLARGSMRLRLTCLVPRS...	11	0	11	2	0	
MGWMSAFANVAVLGVGFSHPKQPTFPSCQSRVCHSGAN	1	9	10	1	16	
TGYGCRGVDDYTCSSKSRGFGNAVPHK...	1	9	10	1	16	
MKILLISLCAVCAIQDPESTPEAPNSTSTPTSTTSPAT	0	10	10	0	1	
TVYTPAFGLNVLVPTTTLGAVALMDH	0	10	10	0	1	
MGLSLLTLGLAYLLVAVLSFAESRRYTKDVIYADAGTDTGPW	0	10	10	0	1	
SGRGSYDGRKYAEGGYDKKKKWKGKHK...						

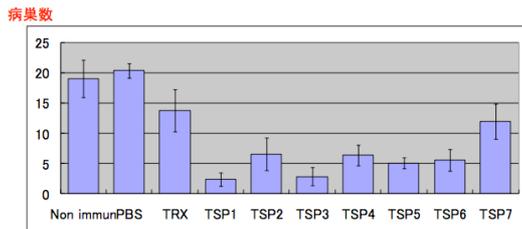
節を用いて RNA 干渉を試みた。リアルタイム RT-PCR により mRNA を測定し、electroporation 法と Soaking 法について様々な条件設定を行なった。electroporation だけでも AntigenB/1 の mRNA は顕著に減少したが、RNA 干渉の効果は確認された。

さらに、幼虫の増殖に関連すると考えられる 14-3-3 に注目し、RNA 干渉を試みた。リアルタイム RT-PCR により mRNA を測定し、14-3-3 の mRNA は顕著に減少していることを示し、さらに、抗血清を用いてこれらのタンパク量においても減少していることを確認した。Antigen II/3 についても同様の結果を得た。また、これらの分子について多包虫の胚芽細胞を用いた RNAi も行い、成功した。

14-3-3 zetaのRNA干渉



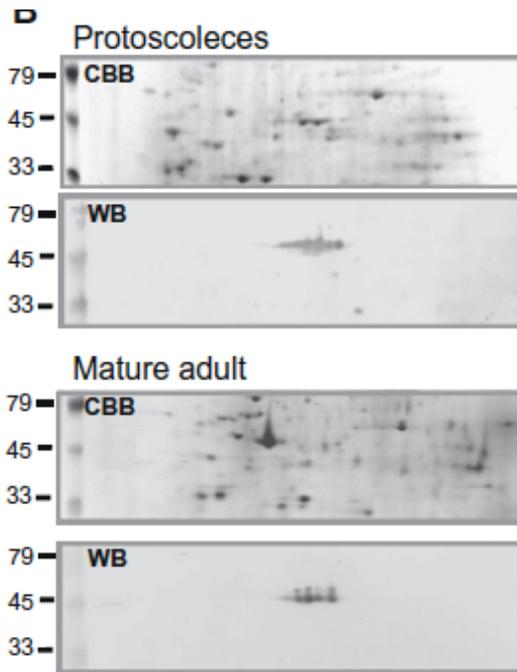
4) ワクチン候補として膜関連蛋白を解析し、特に住血吸虫でワクチン候補として知られている Tetraspanin 類について調べ、ワクチン候補として Tetraspanin 類(TSP1-12)について解析し、TSP1-7 について幼虫に対するワクチン効果を確認した。



アジュバントとしてCFAとIFAを用いた組換えタンパクのワクチン効果(虫卵投与後1ヶ月後の病巣数の比較)

チン効果(マウスへの虫卵感染に対する防御率)を比較し、TSP1と3に効果が認められた。TSP5は有鉤囊虫診断用抗原との相同性から今後診断用抗原としての有効性が示唆された。

5) 多包条虫幼虫および成虫のプロテオーム解析を行い、2次元電気泳動では熱ショック蛋白20が免疫学的に主要な抗原であることが明らかとなり、さらに糖蛋白Emgp89の診断用抗原としての有用性を調べた。



6) 幼虫(宿主組織を含む)のcDNAライブラリー中の約9,870クローンについてネズミ類と相同性の高いものが含まれていた。リボソーム蛋白類は1,160クローン以上含まれていたが、その他、多数認められたクローンとしては、免疫グロブリン(軽鎖および重鎖)、オステオポンチン、フェリチン重鎖、リゾチームC、アルブミン、アポリポプロテインE、

Frequently found host cDNA

Candidate gene	clones		
Total	9,881	Cathepsin S	36
Blank (not yet determined)	2,220	Ribosomal protein L26	36
Immunoglobulin kappa light chain	336	Ribosomal protein L37	35
Osteopontin	219	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	35
Ferritin heavy chain	202	Ribosomal protein S19	34
Lysozyme C	202	Actin beta cytoskeletal / cytoskeletal beta actin	33
Immunoglobulin heavy chain	192	Cytochrome c oxidase subunit II	31
Albumin	103	Ribosomal protein S15a	30
Apolipoprotein E	81	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	30
Beta-2-microglobulin	79	Prosaposin	29
Thymosin beta-4	75	thioredoxin 1	29
Unknown Major Protein (?)	59	Tumor protein, translationally-controlled 1	29
Transferrin	55	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	28
Haptoglobin	50	Ribosomal protein S26	28
Vimentin	49	Ribosomal protein S7	28
Tespa4 protein/trypsin 4 (Try4)	46	Ribosomal protein P1	27
Decorin isoform 6/dermatan sulfate proteoglycan II	45	Collagen, type III, alpha 1	26
Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	42	alpha-interferon inducible protein/sequence similarity 14	25
MHC class I H-2D ^b -like protein	41	Cystatin B (Stefin B) cysteine proteinase inhibitor	25
総Ribosomal Proteinは1,123			

β2ミクログロブリン、チモシンβ4、トランスフェリン、ハプトグロビン、ビメチン、デコリンなどであった。

免疫関連のcDNAとして、CD抗原ではCD63、CD74、CD147、CD81およびCD14、MHC関連ではMHC class I H-2Dr protein、MHC class II antigen E-K α、MHC class II antigen RT1 class II、MHC class II antigen A aαおよびEβ等が多く見られた。

以上のことはほとんど新知見である。

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16件)

① Kouguchi H, Matsumoto J, Yamano K, Katoh Y, Oku Y, Suzuki T, Yagi K. *Echinococcus multilocularis*: purification and characterization of glycoprotein antigens with serodiagnostic potential for canine infection. *Exp Parasitol*. 査読有り 2011 May;128(1):50-6.

② Armua-Fernandez MT, Nonaka N, Sakurai T, Nakamura S, Gottstein B, Deplazes P, Phiri IG, Katakura K, Oku Y. Development of PCR/dot blot assay for specific detection and differentiation of taeniid cestode eggs in canids. *Parasitol Int*. 査読有り 2011 Jan;60(1):84-9.

③ 奥祐三郎, 八木欣平, 原雄一郎, 渡辺日出海, 李爽, 山下理宇, 若栗浩幸, 鈴木穰, 豊田敦, 渡辺純一 多包条虫(幼虫・成虫)のcDNAライブラリーのin silico解析 特にspliced leaderを有する遺伝子について 獣医寄生虫学会 査読無し 2010 8巻:116

④ Armua-Fernandez MT, Nonaka N, Sakurai T, Nakamura S, Gottstein B, Deplazes P, Phiri IG, Katakura K, Oku Y. 種特異的オリゴプローブを用いた犬のテニア科条虫の同定と鑑別 獣医寄生虫学会 査読無し 2010 8巻:117

⑤ Mizukami C, Spiliotis M, Gottstein B, Yagi K, Katakura K, Oku Y. Gene silencing in *Echinococcus multilocularis* protoscoleces using RNA interference. *Parasitol Int*. 査読有り 2010 Dec;59(4):647-52.

⑥ Spiliotis M, Mizukami C, Oku Y, Kiss F, Brehm K, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* primary cells: improved

isolation, small-scale cultivation and RNA interference. *Mol Biochem Parasitol.* 査読有り 2010 Nov;174(1):83-7.

⑦ Matsumoto J, Kouguchi H, Oku Y, Yagi K. Primary alveolar echinococcosis: course of larval development and antibody responses in intermediate host rodents with different genetic backgrounds after oral infection with eggs of *Echinococcus multilocularis*. 査読有り *Parasitol Int.* 2010 Sep;59(3):435-44.

⑧ Kouguchi H, Matsumoto J, Katoh Y, Suzuki T, Oku Y, Yagi K. *Echinococcus multilocularis*: two-dimensional Western blotting method for the identification and expression analysis of immunogenic proteins in infected dogs. *Exp Parasitol.* 査読有り 2010 Feb;124(2):238-43.

⑨ Hülsmeyer AJ, Deplazes P, Naem S, Nonaka N, Henet T, Köhler P. An *Echinococcus multilocularis* coproantigen is a surface glycoprotein with unique O-glycosylation. *Glycobiology.* 査読有り 2010 Jan;20(1):127-35.

⑩ Dang Z, Yagi K, Oku Y, Kouguchi H, Kajino K, Watanabe J, Matsumoto J, Nakao R, Wakaguri H, Toyoda A, Sugimoto C. Evaluation of *Echinococcus multilocularis* tetraspanins as vaccine candidates against primary alveolar echinococcosis. *Vaccine.* 査読有り 2009 Dec 9;27(52):7339-45

⑪ Nonaka N, Sano T, Inoue T, Teresa Armua M, Fukui D, Katakura K, Oku Y. Multiplex PCR system for identifying the carnivore origins of faeces for an epidemiological study on *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido, Japan. *Parasitol Res.* 査読有り 2009 Dec;106(1):75-83.

⑫ Dang Z, Watanabe J, Kajino K, Oku Y, Matsumoto J, Yagi K, Kouguchi H, Sugimoto C. Molecular cloning and characterization of a T24-like protein in *Echinococcus multilocularis*. *Mol Biochem Parasitol.* 査読有り 2009 Nov;168(1):117-9.

⑬ Lagapa JT, Oku Y, Kaneko M, Ganzorig S, Ono T, Nonaka N, Kobayashi F, Kamiya M. Monitoring of environmental contamination by *Echinococcus multilocularis* in an urban fringe forest park in Hokkaido, Japan. *Environ Health Prev Med.* 査読有り 2009 Sep;14(5):299-303.

⑭ Nonaka N, Kamiya M, Kobayashi F,

Ganzorig S, Ando S, Yagi K, Iwaki T, Inoue T, Oku Y. *Echinococcus multilocularis* infection in pet dogs in Japan. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 査読有り 2009 Apr;9(2):201-6.

⑮ Nonaka N, Kamiya M, Oku Y. A vague understanding of the biology and epidemiology of echinococcosis by dog owners in Hokkaido, an endemic island for *Echinococcus multilocularis* in Japan. *J Vet Med Sci.* 査読有り 2009 Jan;71(1):105-7.

⑯ Nonaka N, Hirokawa H, Inoue T, Nakao R, Ganzorig S, Kobayashi F, Inagaki M, Egoshi K, Kamiya M, Oku Y. The first instance of a cat excreting *Echinococcus multilocularis* eggs in Japan. *Parasitol Int.* 査読有り 2008 Dec;57(4):519-20.

[学会発表] (計 14 件)

① 中尾 亮、亀田弥生、孝口裕一、Yila Simon、松本 淳、鳥越大輔、佐々木宣哉、奥祐三郎、杉本千尋、安居院高志、八木欣平 マウスにおける多包条虫シスト定着と原頭節発育に關与する宿主側遺伝的因子のQTL解析 第151回日本獣医学会学術集会 2011年3月31日 東京農工大学

② 奥祐三郎、八木欣平、原雄一郎、渡辺日出海、李爽、山下理宇、若栗浩幸、鈴木穰、豊田敦、渡辺純一 多包虫感染コットンラットの腹腔内シスト塊由来 cDNA ライブラリーに含まれていた宿主由来 cDNA の解析 第150回日本獣医学会学術集会 2010年9月17日 帯広畜産大学

③ Oku Y., Armua-Fernandez M. T., Yagi Y, et al *In silico* analyses of full-length rich cDNA libraries of larval and adult *Echinococcus multilocularis* (Preliminary results). Workshop on "Recent advances in the biology and biochemistry of *Echinococcus* infections", in the context of the XXIII World Congress of Hydatidosis., 2009年12月10日 Hotel Raison, Colonia del Sacramento, Uruguay

④ Mizukami, C., Spiliotis M., Gottstein, B., Katakura, K., Oku Y. RNA interference (RNAi) methods for protoscolices and primary cells of *Echinococcus multilocularis*. The XXIII World Congress of Hydatidosis. 2009年12月10日 Hotel Raison, Colonia del Sacramento, Uruguay

⑤ Armua-Fernandez, M. T., Nonaka N., Sakurai, T., Gottstein, B., Deplazes, P.,

Katakura, K., Oku, Y., DNA dot blot assay for the differentiation of Taeniid cestodes in canids. The XXIII World Congress of Hydatidosis. 2009年12月10日 Hotel Raison, Colonia del Sacramento, Uruguay

⑥ 奥祐三郎、八木欣平、原雄一郎、渡辺日出海、李爽、山下理宇、若栗浩幸、鈴木穰、豊田敦、渡辺純一 幼虫および成虫の多包条虫cDNAライブラリーに多く見られたcDNAの *in silico*解析、特にAntigenBとLSU rRNAについて 第55回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 2009年10月3日 帯広市 帯広畜産大学

⑦ Armua-Fernandez, M. T., Nonaka, N., Sakurai, T., Katakura, K., Oku, Y., Discrimination of taeniid cestodes in canids by using species-specific oligonucleotide probes 第55回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 2009年10月3日 帯広市 帯広畜産大学

⑧ 奥祐三郎、八木欣平、原雄一郎、渡辺日出海、李爽、山下理宇、若栗浩幸、鈴木穰、豊田敦、渡辺純一 多包条虫(幼虫・成虫)のcDNAライブラリーの*in silico*解析 特にSpliced Leaderを有する遺伝子について 第148回日本獣医学会学術集会 2009年9月26日 鳥取市 鳥取市民会館

⑨ 奥祐三郎 人と動物の共通感染症: エキノコックス症の問題解決に向けて(特別講演)招待講演 第32回日本骨・関節感染症学会 2009年6月19日 札幌市京王プラザホテル (シーガイヤ)

⑩ 平松滯、水上智秋、松本淳、野中成晃、片倉賢、李爽、山下理宇、渡辺純一、神谷正男、奥祐三郎 多包虫のcDNAライブラリーに見られた抗酸化活性関連遺伝子 第78回日本寄生虫学会大会 2009年3月28日 東京 法政大学市ヶ谷キャンパス

⑪ 後藤明子、八木欣平、山野公明 遺伝子工学的手法を用いた多包虫に対する組換えモノクローナル抗体の作成 第78回日本寄生虫学会大会 2009年3月28日 東京 法政大学市ヶ谷キャンパス

⑫ Oku, Y. Control of echinococcus and molecular biology 2008年10月22日 Sapporo, Hokkaido Univ. Parasite Vector Genomics II in Sapporo

⑬ 奥祐三郎、李爽、山下理宇、渡辺純一、野中成晃、神谷正男 多包条虫の網羅的cDNAライブラリーの*in silico*解析、特にプロテアーゼ類について 第146回日本獣医学会学術集会 2008年9月25日 宮崎市 ワールドコン

ベンションセンターサミット(シーガイヤ)

⑭ 中村星太、野中成晃、I. G. KPhiri、C. Mwelwa、井上貴史、松本淳、片倉賢、奥祐三郎 ザンビアの牛から検出された単包条虫の genotype について 第146回日本獣医学会学術集会 2008年9月25日 宮崎市 ワールドコンベンションセンターサミット

[図書] (計 0件)

[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

フルエキノコック <http://fullmal.hgc.jp/em/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥祐三郎 (OKU YUZABURO)
鳥取大学・農学部・教授
研究者番号: 60133716

(2) 研究分担者

野中成晃 (NONAKA NARIAKI)
宮崎大学・農学部・准教授
研究者番号: 50281853
渡辺純一 (WATANABE JUNICHI)
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号: 20201189
杉本千尋 (SUGIMOTO CHIHIRO)
北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンター・教授
研究者番号: 90231373
松本淳 (MATSUMOTO JUN)
日本大学・生物資源科学部・講師
研究者番号: 70296169
八木欣平 (YAGIU KINPEI)
北海道立衛生研究所・生物科学部・衛生動物科長
研究者番号: 70414323

(3) 連携研究者

なし