

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24256002

研究課題名(和文)世界におけるエキノкокクス、テニア条虫の種分化、分子共進化に関する総括研究

研究課題名(英文)Molecular evolution and co-evolution in Taeniid cestode infections in the world

研究代表者

伊藤 亮 (ITO, Akira)

旭川医科大学・医学部・その他

研究者番号：70054020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はエキノкокクス、テニア条虫の種分化、分子共進化に関する総括研究である。

エキノкокクス条虫の遺伝子解析成果：多包条虫の地理的遺伝子型、4種類がすべて分布している国はロシアであった。単包条虫G1について、ペルー、中国、イラン、ヨルダンのサンプルのミトコンドリア遺伝子解析から、中近東が起源であると結論した。

テニア条虫の遺伝子解析成果：人体寄生テニア条虫3種類のミトコンドリア遺伝子、核遺伝子を比較解析し、無鉤条虫、アジア条虫2種間での種間交雑、有鉤条虫のアジア型とアフリカ・アメリカ型との種内交雑を確認し、条虫の生殖戦略の一部を証明した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this project is better understanding of the evolutionary aspect of pathogenic Taeniid cestodes infections in the world. All four genotypes of *Echinococcus multilocularis* have been exclusively confirmed from Russia. Mitochondrial DNA analysis of *E. granulosus* s. s. (G1) revealed that polymorphism of the gene was prominent in the specimens from the Middle East countries > China > Peru, and provided a hypothesis "The ancestral *E. granulosus* s.s. emerged in the Middle East". Another purpose is better understanding of fertilization mechanisms in cestodes. Comparative studies of mitochondrial DNA (1N) and nuclear DNA (2N) genes using the sister species, *Taenia saginata* and *T. asiatica*, and the two (Asian and Afro/American) genotypes of *T. solium* sampled from areas where these species and two genotypes were sympatrically distributed revealed different types of hybrids. So, it is clear that out-crossing occurs in hermaphroditic cestode infections if two or more worms mature.

研究分野：寄生虫学、感染症学、熱帯病学

キーワード：寄生虫 遺伝子進化 エキノкокクス条虫 有鉤条虫 無鉤条虫 アジア条虫

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の学術的な経緯：これまでの基盤研究（海外学術調査）により、全世界に分布しているエキノкокクス条虫を9種類に再分類し、世界各国のサンプルを入手した。

(2) 人体寄生テニア条虫についてはこれまでの海外学術調査から3種類が同所的に分布している地域を中国とタイから発見した。

(3) *T. solium* の遺伝子型がアジア、アフリカ・アメリカ型に2大別されるが、アジア、アフリカ・アメリカ型の交わり合いが期待されるマダガスカルから多数の囊虫を入手した。

2. 研究の目的

(1) 地球規模から眺めたエキノкокクス条虫の地理的拡散と起源を探る。

(2) テニア属条虫の中でヒトへの病原性(囊虫症)が知られている有鉤条虫の遺伝子型、特にアジア型とアフリカ・アメリカ型の接点と期待されるマダガスカルで入手したサンプル、ならびに無鉤条虫とアジア条虫が同所的に分布している地域で入手したサンプルの核、ミトコンドリア遺伝子解析を通し、条虫の生殖戦略を探る。

3. 研究の方法

(1) 難治性、致死性寄生虫疾患であるエキノкокクス症、囊虫症を惹起する寄生虫ならびに近縁種の地球規模でのサンプリングにより、各地に分布している寄生虫の遺伝子多型を集団遺伝学的に解析し、種の起源と地理拡大の歴史的考察を試みる。

(2) 遺伝子解析成果に基づき、流行現場での迅速な遺伝子検査法を開発し、疫学調査に供する。

(3) エキノкокクス症、囊虫症患者、患畜の確認検査法として、これまで展開してきた抗体検出法の改良、迅速化を試み、疫学調査に供する。

4. 研究成果

(1) エキノкокクス条虫の遺伝子解析成果：

① 北半球に分布している多包条虫（タホウジョウチュウ）の遺伝子地理的多型、4種類の遺伝子型の分布をまとめることができた。モンゴルではアジア型とモンゴル型の2型が、ロシアにはこれら2型以外に北アメリカ型、ヨーロッパ型のすべての型が分布していることを確認した。

② 地球全域に分布している単包条虫(タンホウジョウチュウ)G1について、ペルー、中国、イラン、ヨルダンのサンプルを用い、ミトコンドリア遺伝子を解析した結果、種内変異が最も多いのが中近東であり、中近東が起源であると結論した。今後は北アフリカ(エジプト、スーダン、エチオピア)のサンプルの解析が不可欠である。旧約聖書の出エジプト記から推測すれば、アフリカにさらに歴史の古い単包条虫が分布していて不思議ではない。

(2) テニア条虫の遺伝子解析成果：人体寄生テニア属条虫(有鉤条虫、無鉤条虫、アジア条虫)のミトコンドリア遺伝子、核遺伝子の比較解析から、無鉤条虫、アジア条虫2種類の間での種間交雑が、また有鉤条虫のアジア型とアフリカ・アメリカ型との間での種内交雑を証明し、条虫の生殖戦略の一部を確認した。

① 無鉤条虫、アジア条虫2種類の間での種間交雑：タイ、中国で2種類が同所的に分撫している地域で採取された個体のミトコンドリア遺伝子(1N)と核遺伝子(2N)の比較解析から異なるタイプの種間交雑を示す個体を少なからず発見した。

② 有鉤条虫の種内交雑：上記①で種間交雑を証明したことから、種内交雑は当然予測されることであった。マダガスカル各地のプタから採取された多数の囊虫のミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の比較解析から、アジア型が優勢であること、アジア型とアフリカ型の交雑個体を発見した。

③ アフリカ、エチオピアに分布しているテニア科条虫の遺伝子解析成果：エチオピア

のハイエナ、ウシから採取されたサンプルの遺伝子解析から、エキノコックス属条虫、新種と予測される種を含むテニア属条虫を発見した。

(3) 技術改善と流行地での疫学調査

血清検査、遺伝子検査法の改善を試み、中国、インドネシア、タイ、モンゴルでの疫学調査に導入した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(国際専門誌 50 件、和文誌 2 件、計 52 件) 主なもの 25 件のみ記載。

- ① Wandra T, Swastika IK, Dharmawan NS, Purba IE, Sudamaja IM, Yoshida T, Sako Y, Okamoto M, Diarthini NLPE, Laksemi DAAS, Yanagida T, Nakao M, Ito A. The present situation and towards the prevention and control of neurocysticercosis on the tropical island, Bali, Indonesia. *Parasites and Vectors* 2015, 8, 148. 査読有
doi: 10.1186/s13071-015-0755-z
- ② Aoki T, Hagiwara M, Yabuki H, Ito A. Unique MRI findings for differentiation of an early stage of hepatic alveolar echinococcosis. *BMJ Case Report* 2015, 査読有 doi:10.1136/bcr-2014-208123
- ③ Ito A. Commissioned Review Article: Basic and Applied Problems in Developmental Biology and Immunobiology of Cestode Infections: *Hymenolepis*, *Taenia* and *Echinococcus*. *Parasite Immunology* 2015, 37, 53-69. 査読有
doi: 10.1111/pim.12167.Review
- ④ Ito A, Wandra T, Li T, Dekumyoy P, Nkouawa A, Okamoto M, Budke CM. The present situation of human taeniasis and cysticercosis in Asia. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* 2014, 9, 173-185. 査読有
doi:10.2174/1574891X10666150410125
- 711
- ⑤ Yanagida T, Carod JF, Sako Y, Nakao M, Hoberg E, Ito A. Genetics of the pig tapeworm in Madagascar reveal a history of human dispersal and colonization. *PLoS ONE* 2014, 9(10), e109002. 査読有
doi:10.1371/journal.pone.0109002.
- ⑥ Ito A, Budke C. Invited Review: Culinary delights and travel? A review of zoonotic cestodiasis and metacestodiasis. *Travel Medicine and Infectious Diseases* 2014, 12, 582-591. 査読有
doi: 10.1016/j.tmaid.2014.06.009.
- ⑦ Ito A, Dorjsuren T, Davaasuren A, Sako Y, Yanagida T, Nakaya K, Bat-Ochir OE, Ayushkhuu T, Bazarragchaа N, Gonchigsengee N, Li T, Agvaandaram G, Davaajav A, Chinchuluun B, Chuluunbaatar G. Cystic echinococcosis in Mongolia: molecular identification, serology and risk factors. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2014, 8(6), e2937. 査読有
doi:10.1371/journal.pntd.0002937.
- ⑧ Terefe Y, Hailemariam Z, Menkir S, Nakao M, Lavikainen A, Haukialmi V, Iwaki T, Okamoto M, Ito A. Phylogenetic characterisation of *Taenia* tapeworms in spotted hyenas and reconsideration of the “Out of Africa” hypothesis of *Taenia* in humans. *Int J Parasitol* 2014, 44, 533-541. 査読有 doi:10.1016/j.ijpara.2014.03.013.
- ⑨ Chinchuluun B, Sako Y, Khatanbaatar I, Bayarmaa B, Lkhagvatseren S, Battsetseg G, Yanagida T, Itoh S, Temuulen D, Budke CM, Ito A, Batsukh Z. A survey of seropositivity to antigen B, an immunodiagnostic antigen for human cystic echinococcosis, in domestic animals in Mongolia. *Parasitol Int* 2014, 63, 324-326. 査読有

- doi:10.1016/j.parint.2013.12.002
- ⑩ Hailemariam Z, Nakao M, Menkir S, Lavikainen A, Iwaki T, Yanagida T, Okamoto M, Ito A. Molecular identification of species of *Taenia* causing bovine cysticercosis in Ethiopia. *J Helminthol* 2014, 88, 376-380. 査読有
doi:10.1017/S0022149X13000138
- ⑪ Tamarozzi F, Sako Y, Ito A, Piccoli L, Grisolia A, Itoh S, Gatti S, Meroni V, Genco F, Filice C, Brunetti E. Recombinant AgB8/1 ELISA test vs commercially available IgG ELISA test in the diagnosis of cystic echinococcosis. *Parasite Immunology* 2013, 35, 433-440. 査読有
doi: 10.1111/pim.12050
- ⑫ Ito A. Nothing is perfect! Trouble-shooting in immunological and molecular studies on cestode infections. *Parasitology* 2013, 140, 1551-1565. 査読有
doi: 10.1017/s0031182013000966
- ⑬ Sako Y, Itoh S, Okamoto M, Nakaya K, Ito A. Simple and reliable preparation of immunodiagnostic antigens for *Taenia solium* cysticercosis. *Parasitology* 2013, 140, 1589-1594. 査読有
doi: 10.1017/s0031182013000978
- ⑭ Yamane K, Yanagida T, Li T, Chen X, Dekumyoy P, Waikagul J, Nkouawa A, Nakao M, Sako Y, Ito A, Sato H, Okamoto M. Genotypic relationships between *Taenia saginata* and *Taenia asiatica* and their hybrids. *Parasitology* 2013, 140, 1595-1601. 査読有
doi: 10.1017/s0031182013001273
- ⑮ Li T, Chen X, Yanagida T, Wang H, Long C, Sako Y, Okamoto M, Wu Y, Giraudoux P, Raoul F, Nkouawa A, Nakao M, Craig PS, Ito A. Detection of human taeniasis in Tibetan endemic areas, China. *Parasitology* 2013, 140, 1602-1607. 査読有
doi: 10.1017/s003118201300111x
- ⑯ Nakao M, Yanagida T, Konyaev S, Lavikainen A, Odnokurtsev VA, Zaikov VA, Ito A. Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes. *Parasitology* 2013, 140, 1625-1636. 査読有
doi: 10.1017/s0031182013000565
- ⑰ Konyaev SV, Yanagida T, Nakao M, Ingovatova GM, Shoykhet YN, Bondarev AY, Odnokurtsev VA, Loskutova KS, Lukmanova GI, Dokuchaev NE, Spiridonov S, Alshinecky MV, Tatyana SN, Andreyanov ON, Abranov SA, Krivopalov AV, Karpenko SV, Lopatina NV, Dupal TA, Sako Y, Ito A. Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia. *Parasitology* 2013, 140, 1637-1647. 査読有
doi: 10.1017/s0031182013001340
- ⑱ Ito A, Chuluunbaatar G, Yanagida T, Davaasuren A, Sumiya B, Asakawa M, Ki T, Nakaya K, Davaajav A, Dorjsuren T, Nakao M, Sako Y. *Echinococcus* species from red foxes and corsac foxes, and wolves in Mongolia. *Parasitology* 2013, 140, 1648-1654. 査読有
doi: 10.1017/s0031182013001030
- ⑲ Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics taxonomy of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *International Journal for Parasitology* 2013, 43, 1017-1029. doi: 10.1016/j.ijpara.2013.06.002
- ⑳ Nakao M, Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalmi V, Konyaev S, Oku Y, Okamoto M, Ito A. Molecular phylogeny of the genus *Taenia* (Cestoda: Taeniidae): proposals for the revival of *Hydatigera* Lamarck, 1816 and

the creation of a new genus *Versteria*. *Int J Parasitol* 2013, 43, 427-437. 査読有
doi: 10.1016/j.ijpara.2012.11.014

- ⑳ Li T, Ito A, Chen X, Long C, Okamoto M, Raoul F, Giraudoux P, Yanagida T, Nakao M, Xiao N, Craig PS. Usefulness of pumpkin seeds combined with areca nut extract in community-based treatment of human taeniasis in northwest Sichuan province. *Acta Trop* 2012, 124, 152-157. 査読有
doi: 10.1016/j.actatropica.2012.08.002.
- ㉑ Yanagida T, Mohammadzadeh T, Kamhawi S, Nakao M, Sadjjadi SM, Hijjawi N, Abdel-Hafez SK, Sako Y, Okamoto M, Ito A. Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus* sensu stricto in the Middle East. *Parasitol Int* 2012, 61, 599-603. 査読有
doi: 10.1016/j.parint.2012.05.014
- ㉒ Hailemariam Z, Nakao M, Menkir S, Lavikainen A, Yanagida T, Okamoto M, Ito A. Molecular identification of unilocular hydatid cysts from domestic ungulates in Ethiopia: implications for human infections. *Parasitol Int* 2012, 61, 375-377. 査読有
doi: 10.1016/j.parint.2012.01.007
- ㉓ Yanagida T, Sako Y, Nakao M, Nakaya K, Ito A. Mini Review: Taeniasis and cysticercosis due to *Taenia solium* in Japan. *Parasites and Vectors* 2012, 5, 18. 査読有
doi: 10.1186/1756-3305-5-18
- ㉔ Yamane K, Suzuki Y, Tachi E, Li TY, Chen XW, Nakao M, Nkouawa A, Yanagida T, Sako Y, Ito A, Sato H, Okamoto M. Recent hybridization between *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. *Parasitol Int* 2012, 61, 351-355. 査読有
doi: 10.1016/j.parint.2012.01.005.

機関リポジトリ <http://lib.asahikawa-med.ac.jp/>

〔国際学会発表〕（計 25 件）15 件のみ収録

- ① Ito A. Speaker on “Recent advances and

perspectives in molecular epidemiology of *Taenia solium* cysticercosis” 12th MEEGID, Bangkok, Thailand. 11-13 Dec 2014.

- ② Ito A. Speaker on “Taeniasis and cysticercosis in Asia” 2014 JITMM and 8th Food- and Water-Borne Parasitic Zoonoses, Bangkok, Thailand. 2-4 Dec 2014.
- ③ Ito A. Speaker on “Echinococcoses in Mongolia” Wellcome Trust Workshop on Echinococcoses in the Central Asia, Kyrgyzstan and the Neighbours. Bishkek, Kyrgyzstan. 25-26 November 2014.
- ④ Ito A. Awardee’s speech at the 43rd Annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, New Orleans, America. 2-6 November 2014.
- ⑤ Ito A. Chairman at the Satellite Symposium on “Recent Advances of *Taenia asiatica* Research” Mexico City, Mexico. 10 Aug 2014.
- ⑥ Ito A. Chairman at “Recent Advances in Echinococcoses” 13th ICOPA in Mexico City, Mexico. 12 Aug 2014.
- ⑦ Ito A. Invited speaker on “Towards control of taeniasis and cysticercosis in Asia” at “State of the Art for the Control of *Taenia solium* Cysticercosis” 13th ICOPA in Mexico City, Mexico. 14 Aug 2014.
- ⑧ Yanagida T. Invited speaker on “Genetic characterization of *Echinococcus* spp. causing echinococcosis in the Northern Hemisphere” at “Recent Advances in Echinococcoses” 13th ICOPA in Mexico City, Mexico. 12 Aug 2014.
- ⑨ Ito A. Invited speaker on “Echinococcoses in Mongolia: molecular identification, serology and risk factors” at 4th Current Advances in Microbiology and Immunology, Ulaanbaatar, Mongolia. 19-20 June 2014.
- ⑩ Ito A. Invited speaker on “Chaotic situation

of taeniasis and cysticercosis as neglected tropical diseases or neglected zoonotic diseases in Asia” at 6th ASEAN Congress of Tropical Medicine and Parasitology, Kuala Lumpur, Malaysia. 5-7 March 2014,

- ⑪ Ito A. Invited speaker on “Towards control of cysticercosis in Asia”. S1. Commemorative Symposium for the 100 years of ICTMM “The Paradigm Shift Towards Parasitic Disease Elimination” at JITMM2013. Bangkok, Thailand. 11-13 Dec 2013.
- ⑫ Ito A. Invited speaker on “Lethal cestode zoonoses, cysticercosis and echinococcosis in Asia and the world”. The 28th International Congress of Chemotherapy and Infection. Yokohama, Japan. 5-8 June 2013.
- ⑬ Ito A. Invited speaker on “What can we provide through molecular and immunological approaches? Round Table: Taeniasis and Cysticercosis Complex”. The 18th International Congress of Tropical Medicine and Malaria. Rio de Janeiro, Brazil. 23-27 Sep 2012.
- ⑭ Ito A. invited speaker on “Alveolar echinococcosis: The rapid and remarkable decrease in antibody titers after curative resection of hepatic lesion” at 3rd International Conference “Current Advances in Immunology and Microbiology”, Ulaanbaatar, Mongolia. 21-22 June 2012.
- ⑮ Ito A. Invited speaker on “After 30 years: towards control of cysticercosis in Southeast Asia through multilateral collaboration and cooperation” at 5th ACTMP (ASEAN Congress of Tropical Medicine and Parasitology), Manila, Philippines. 15-17 May 2012.

[図書] (洋書 3 件、和書 10 件、計 13 件)

重要な洋書 3 件のみ収録

- ① Sako Y, Nkouawa A, Yanagida T, Ito A. (2013) Chapter 9. Loop-mediated isothermal amplification method for a differential identification of human *Taenia* tapeworms. In: Nuclear Acid Detection: Methods and Protocols (ed. by Kolpashchikov DM, Gerasimova YV), Methods in Molecular Biology vol. 1039. pp. 109-120. Springer Science.
- ② Ito A, Nakao M, Sako Y, Yanagida T, Nakaya K, Knapp J, Ishikawa Y (2012) Chapter *Echinococcus* and Echinococcosis. In: Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens (ed. by Liu D), 249-263. CRC Press. (ISBN 9781439812426)
- ③ Okamoto M, Ito A (2012) Chapter Taenia. In: Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens (ed. by Liu D), 295-305. CRC Press. (ISBN 9781439812426)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 亮 (ITO, Akira)
旭川医科大学・医学部・客員教授
研究者番号：70054020

(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
中尾 稔 (NAKAO, Minoru)
旭川医科大学・医学部・准教授
研究者番号：70155670
中谷 和宏 (NAKAYA, Kazuhiro)
旭川医科大学・医学部・准教授
研究者番号：70109388
柳田 哲矢 (YANAGIDA, Tetsuya)
旭川医科大学・医学部・助教
研究者番号：40431837

岡本 宗裕 (OKAMOTO, Munehiro)
京都大学・霊長類研究所・教授
研究者番号：70177096

岡本 芳晴 (OKAMOTO, Yoshiharu)
鳥取大学・農学部・教授
研究者番号：50194410