
免疫不全マウスを用いた
エキノкокクス症病態モデルの開発
**Severe Combined Immunodeficient(SCID) Mice
As Animal Models for Human Echinococcosis**

平成15年度～16年度科学研究費補助金
基盤研究C2 課題番号15500295

研究成果報告書

平成17年3月

研究代表者 中谷和宏
(旭川医科大学・医学部・助教授)

目次

はしがき	1
研究組織	2
研究経費	2
研究成果の概要	3
研究発表	10
学会口頭発表リスト	
学術雑誌掲載論文リスト	
学術雑誌掲載論文の別刷	14

はしがき

多包条虫 *Echinococcus multilocularis* はユーラシア大陸から北アメリカにかけて北半球に広く分布しており、自然界では主にキツネを終宿主(成虫である多包条虫は体長 1.2 ~ 4.5mm、片節数 4 ~ 6 個)、ネズミを中間宿主(幼虫期は特に多包虫と呼ばれる)とする条虫である。ネズミなどの好適中間宿主により経口摂取された虫卵は胃液と胆汁の作用で孵化して六鉤幼虫となり、腸管粘膜より侵入して静脈やリンパ管を經由し、肝臓や全身臓器に運ばれて定着する。六鉤幼虫は臓器定着直後に 1 個の嚢胞へと変化する。嚢胞は内側の薄い胚層と外側の厚いクチクラ層の二層の膜からなり、腔内に嚢胞液を満たしている。1 つの嚢胞からはやがて新たな嚢胞が出芽し、これを繰り返して無性生殖的に多数の嚢胞を派生するようになる。時間の経過とともに胚層からは石灰小体や多数の繁殖胞に包まれた原頭節が形成されてくる。クチクラ層の外側は宿主の厚い外膜層(慢性の炎症性組織)に囲まれ、多包虫本体である多数の嚢胞を含めた全体が多包虫病巣部と呼ばれる。中間宿主体内の原頭節はやがてキツネなどの終宿主に取り込まれると腸管内で成虫に生育し、ほぼ 1 ヶ月後から虫卵を産生するようになってその生活環を完成している。

ヒトは中間宿主にあたり、キツネから排泄され糞便内に紛れた虫卵(直径約 40 μ m)を経口摂取することにより、肝臓を主とした全身の臓器で病巣を形成することとなる。日本では北海道一円で患者が発生しており、本州以西でも散発的な発生があって公衆衛生上極めて深刻な寄生虫疾患として認識されている。ヒトの治療では病巣部の外科的切除以外に根治療法は無く、化学療法でアルベンダゾールやメベンダゾールなどのベンズイミダゾール系薬剤が唯一用いられてはいるが殺滅効果は期待できず、相当長期にわたり服用しても多少の増殖抑制効果しか得られていない。公衆衛生学的にはキツネから排泄される「虫卵による環境汚染の低減」、医学的見地からは「多包虫症患者の早期摘発ならびに治療」が極めて重要なポイントとなる。多包虫がヒトの肝臓で増殖した場合には悪性腫瘍のごとく増殖して肝不全を来して死に至らしめる(多包虫症)。

自然界の中間宿主では虫卵を経口的に摂取することにより多包虫に感染する。これを一次多包虫症という。一方、実験室内で多包虫を継代したり増殖させるには、感染ネズミより多包虫組織を摘出してホモゲナイズした後、PBS に希釈してコトンラット、チャイニーズハムスター、ラット、マウスの腹腔へ接種すると容易に感染が成立し、キツネやイヌを飼育することなく、また危険な虫卵を扱わずに多包虫の研究が可能となる。これを二次多包虫症といい本寄生虫の特異な性質でもある。

これまでの研究では近交系マウスに自然感染に近似した肝臓への病巣作成のため門脈接種法の開発、アルベンダゾールやメベンダゾールを主としたベンズイミダゾール系薬剤の効果試験、新しい抗原(rEm-18)開発による血清学的検索、さらに多方面に及ぶ遺伝子解析を進めてきた。この過程で、従来の説では理解できない多包虫の増殖・発育形態様式が種々存在することが明らかになってきている。本研究ではこれまでに判明している多包虫の生物学的特徴を前提にして、実験動物とくに免疫不全マウスを用いて病態モデルを作成し、多包虫の増殖過程を観察することに主眼を置いた。

研究組織

研究代表者

中谷 和宏 (旭川医科大学・医学部・附属動物実験施設・助教授)

研究分担者

山崎 浩 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・助教授)

中尾 稔 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・助手)

迫康 仁 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・助手)

伊藤 亮 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・教授)

研究協力者

伊藤 園予 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・技術補佐員)

馬木提 吾拉木 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・大学院生)

肖 寧 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・大学院生)

Marcello Otake Sato (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・大学院生)

盛 真知子 (旭川医科大学・医学部・寄生虫学講座・事務職員)

研究経費

平成15年度 2500,000円

平成16年度 1300,000円

合 計 3800,000円

研究成果の概要

実験動物として代表的なマウスは *Echinococcus multilocularis* の metacestode (多包虫) に対して中程度の感受性しか示さず、この寄生虫の実験室内継代や研究が主としてコットンラットやスナネズミあるいはチャイニーズハムスターで行われてきた。このことは、その入手の制約性、取り扱いの困難さ、経済的負担、不確実な再現性などに照らしても実験に対して種々の制約を設けてきたことは事実である。これまでに、遺伝的背景の均一性が保証され多くの近交系を有するマウスに着目して、多包虫の発育や増殖を近交系やクローズドのマウスを用いてなされてきた研究が少なくない。しかし、免疫不全マウスに関するものは極めて稀である。

免疫不全の疾患モデルとしては 1961 年に英国の Grist により無胸腺の nude マウスが分離され (Issacson 1962, Flanagan 1966)、古くから感染実験やヒトの腫瘍細胞の増殖試験等に利用されてきたことは有名である。その後、米国の Bosma (1983) らによって C.B-17/lcr-scid が開発され、scid 遺伝子がより高度な免疫不全の病態を発現する事が明らかになった。日本では塩野義製薬と実験動物中央研究所が共同で、この scid 遺伝子を非肥満糖尿病モデルの NOD/Shi^{-/-} へ導入した NOD/Shi-scid を開発した。本研究分担者である伊藤はこのマウスが本来ウシやブタでしか発育しない *Taenia saginata* や *T.solium* の cysticercus が極めて良く生育することを報告しており、近縁の *Echinococcus multilocularis* に対しても高い感受性を有することが類推された。

実験 1 免疫不全疾患モデル C.B-17/lcr-scid と NOD/Shi-scid マウスにおける多包虫発育の比較

【目的】 本実験では、第 1 段階として同じ scid 遺伝子を持つ C.B-17/lcr-scid と NOD/Shi-scid における多包虫の増殖速度の比較に主眼がおかれた。

【材料と方法】 多包虫：北海道江別市の郊外で捕獲されたエソヤチネズミ *Clethrionomys rufocanus* から分離され、チャイニーズハムスター *Cricetulus griseus* と DBA/2J マウスで継代された江別株 (F7) を用いた。

マウス：日本クレアより購入した C.B-17/lcr-scid ♀ 10 と C.B-17/lcr-+/+ ♀ 15、自家繁殖された NOD/Shi-scid ♀ 10 と NOD/Shi-+/+ ♀ 14 匹が用いられた。両 scid マウスは他の感染症から防ぐため、放射線滅菌飼料と滅菌された飲水を不断給与され、陽圧の飼育装置内で飼育された。床敷や飼育ケージも同様にオートクレーブ滅菌して使用された。

感染：DBA/2J の腹腔で継代されている多包虫を無菌的に採取し、外科剪刀で細切後、抗生物質(ペニシリンとストレプトマイシン)を加えた滅菌 PBS で洗浄濾過して 10% の懸濁液とし、各マウスの腹腔へ 0.5ml ずつ接種した。

剖検：各系統マウスを 5 匹ずつ、感染 9, 12, 15 週後に開腹し、心臓より採血して血清を分離した。腹腔より多包虫を摘出してその重量を測定した。ただし、感染 15 週後の NOD/Shi-+/+ の個体数のみ 1 匹少なくても 4 匹である。

抗体価の測定：リコンビナント Em-18 抗原に対する抗体価を以下の手順で ELISA 法により測定した。

1. 抗原 rEm18(50ng/well)の感作 37 °C, 2 時間
2. PBS-Tween で洗浄
3. 一次抗体-マウス血清(1:100) 100 μ l/well 37 °C, 1 時間
4. PBS-Tween で洗浄
5. 二次抗体-ペルオキシダーゼ標識抗 IgG(1:2000) 100 μ l/well 37 °C, 1 時間
6. PBS-Tween で洗浄
7. ABTS で発色
8. 405nm, 630nm で吸光度測定

[結果] 多包虫の重量測定値を表 1 に示した。C.B-17/lcr-scld と NOD/Shi-scld を比較すると、感染 9, 12 週のいずれにおいても NOD/Shi-scld の方が有意に高い増殖値を示した。C.B-17/lcr-scld を対照群の C.B-17/lcr-+/+ と比較すると、感染 9, 12 週のいずれでも有意差は認められなかった。一方、同様にして NOD/Shi-scld を NOD/Shi-+/+ と比較すると明らかに有意差が存在した。

表 1 免疫不全マウスにおける多包虫重量の比較

マウスの系統	多包虫重量 平均±標準偏差(g)		
	感染 9 週	感染 12 週	感染 15 週
C.B-17/lcr-scld	1.3 ± 0.7	3.9 ± 3.6	N.T.
NOD/Shi-scld	3.0 ± 0.6	10.4 ± 1.5	N.T.
C.B-17/lcr-+/+	1.2 ± 0.9	4.4 ± 1.7	6.3 ± 1.2
NOD/Shi-+/+	1.1 ± 0.8	2.6 ± 1.0	3.4 ± 1.3*

* 各群 5 匹。ただし、NOD/Shi-+/+ の感染 15 週のみ 4 匹。

表 2 多包虫感染免疫不全マウスの rEm-18 抗原に対する抗体価

マウスの系統	抗体価(平均±標準偏差)		
	感染 9 週	感染 12 週	感染 15 週
C.B-17/lcr-scld	0.0026 ± 0.0013	0.1622 ± 0.3616	N.T.
NOD/Shi-scld	0.0032 ± 0.0013	0.0016 ± 0.0005	N.T.
C.B-17/lcr-+/+	0.4964 ± 0.2749	0.4478 ± 0.2042	0.7282 ± 0.2078
NOD/Shi-+/+	0.7528 ± 0.1200	0.5592 ± 0.1145	0.7120 ± 0.1088*

*各群 5 匹。ただし、NOD/Shi-+/+ の感染 15 週のみ 4 匹。

抗体の検査結果を表 2 に示した。NOD/Shi-scld では全例陰性、C.B-17/lcr-scld では感染 12W の 1 個体(抗体価 0.890 で陽性)を除き、他は陰性であった。このマウスは出荷時

から本実験行程のいずれかで、+/+マウスと混雑した可能性がある。C.B-17/lcr+/+と NOD/Shi+/+は全個体陽性であった。

【考察】 今回の結果は全く納得できないものとなった。scid 遺伝子はマウスの機能的 B 細胞と T 細胞の欠損を招き、免疫応答を高度に低下させて抗体非産生にする。従って、実験前の予想では、C.B-17/lcr, NOD/Shi の両系統ともに scid の方が対照群である+/+より多包虫重量は高くなると考えられ、問題の焦点はむしろ C.B-17/lcr, NOD/Shi の両 scid マウスで増殖する多包虫の重量比較にあった。

ところが、NOD/Shi-scid では明らかに NOD/Shi+/+との間に有意な差をみているにもかかわらず、C.B-17/lcr-scid では感染 9, 12 週のいずれにおいても多包虫の増殖が対照群である C.B-17/lcr+/+と差を生じていない。この原因には、感染源の多包虫組織が不均一に接種された可能性のあることがまず第一に疑われるが、他のグループの全個体から得られた多包虫重量のバラツキから推察すると否定的と考えざるをえなかった。また、感染 12 週の C.B-17/lcr-scid の 1 匹に抗体陽性を示すものがあつた。

Pflumio ら(1996)は、NOD-scid にヒト抹消血リンパ球の移植性が極めて向上することを報告しており、これはマクロファージ機能の減退、補体活性の低下など NOD のもつ免疫学的不全形質による複合的な結果であると推察している。現在 C.B-17/lcr-scid と NOD/Shi-scid の感染実験をやり直し、今回の結果が再現性のある事象なのか否かを検討中である。もし両系統に再び明らかな差違が生ずれば、NOD/Shi-scid の特殊性を追求したいと考えている。

実験2 NOD/Shi-scid マウスにおける多包虫の発育と増殖

【目的】 前実験で NOD/Shi-scid の方が C.B-17/lcr-scid より多包虫への感受性が高い可能性が示唆された。そこで、本実験では NOD/Shi-scid と対照群 NOD/Shi+/+を用い、多包虫の発育と増殖をその重量推移、形態的特徴、抗体産生を検討した。

【材料・方法】 感染源には、2001 年に多包虫症の患者より分離され、チャイニーズハムスターで継代されている Em-K 株(F5)を用いた。感染 6 ヶ月後のハムスターの腹腔より多包虫組織塊を摘出し、外科剪刀で細切した。滅菌 PBS を加えて 300 μ m の金属メッシュで濾過し、3 回洗浄後に静置して 10%PBS 浮遊液とした。これを良く攪拌しながら、11～12 週齢の NOD/Shi-scid マウス♀ 30 匹と、対照群として 9 週齢の NOD/Shi+/+ マウス♀ 18 匹の腹腔へ 0.5ml ずつ接種した。感染 1,2,3,6,9,12 週後にそれぞれ NOD/Shi-scid ♀ 5 匹と NOD/Shi+/+マウス♀ 3 匹ずつ心臓より採血後血清を分離し、rEm-18 抗原に対する抗体価を ELISA 法により測定した。また、摘出された多包虫を秤量し、型のとおりホルマリン固定後、パラフィン切片を作成して HE と PAS 染色を施し、鏡顕した。

【結果】 NOD/Shi-scid と対照群 NOD/Shi+/+から得られた多包虫の重量を表 3 に示した。NOD/Shi-scid では感染 6 週より多包虫の増殖が顕著となり、12 週では対照群のほぼ 11 倍に達した。形態的には多房化や原頭節形成の進行と宿主炎症性組織の欠如が特徴的であり、多房化(嚢胞の増数)と繁殖胞や成熟した原頭節の形成が著しく進行していた。一方、対照群 NOD/Shi+/+では、外膜層の線維組織層が発達して類上皮細胞層、マクロファージ、線維芽細胞そして白血球の浸潤が顕著となり強い慢性の炎症像を呈した。

そのため多包虫の増殖・発育は著しく抑制されており、感染 12 週の時点でも多房化が緩やかで、繁殖胞・原頭節の形成さえほとんど認められなかった。

rEm-18 抗原に対する抗体価の推移を表 4 に示した。NOD/Shi-*scid* では感染 1 週より 12 週まで 6 ポイントの全 30 匹が陰性であった。他方 NOD/Shi-+/+ では、感染 1,2,3,6 週の 3,3,3,2 匹が陰性で、6,9,12 週のそれぞれ 1,3,3 匹が陽性を示した。

表 3 NOD/Shi-*scid* における多包虫増殖の推移
mean \pm SD (g)

感染後の週	NOD/Shi- <i>scid</i> (n=5mice /wks)	NOD/Shi-+/+ (n=3 mice/wks)
1	0.095 \pm 0.038	0.057 \pm 0.017
2	0.116 \pm 0.068	0.222 \pm 0.054
3	0.171 \pm 0.055	0.223 \pm 0.025
6	1.0 \pm 0.4	0.5 \pm 0.1
9	3.6 \pm 0.6	1.0 \pm 0.1
12	11.6 \pm 2.4	1.1 \pm 0.4

感染 1,2,3 週の多包虫組織は化学天秤で秤量し、少数点以下第三位まで表記した。

表 4 rEm-18 抗原に対する抗体価の推移

感染後の週	NOD/Shi- <i>scid</i> (n=5 /wks)	NOD/Shi-+/+ (n=3 /wks)
1	0.0026 \pm 0.0018	0.0083 \pm 0.0015
2	0.0022 \pm 0.0027	0.0097 \pm 0.0032
3	0.0036 \pm 0.0038	0.0103 \pm 0.0031
6	0.0054 \pm 0.0072	0.1583 \pm 0.1672
9	0.0040 \pm 0.0040	0.7773 \pm 0.0119
12	0.0012 \pm 0.0004	0.8217 \pm 0.0775

波長 405nm,630nm で吸光度測定、cut off 値 0.13

[考察] 感染 1,2,3 週での NOD/Shi-*scid* と NOD/Shi-+/+ において、多包虫重量および形態には大きな差異を認めなかった。さらに、この間には対照群である NOD/Shi-+/+ においてさえ rEm-18 抗原に対する抗体は発現していない。これは感染虫体の所謂、前顕性期 prepatent period と宿主側の免疫系が抗原認識中で抗体産生に至っていない複合的

な結果であると考えられた。NOD/Shi-*scid* では接種した感染源に含まれていた原頭節が NOD/Shi-+/+ より長めに存続する傾向を認めた。

感染 6 週以降では NOD/Shi-*scid* の多包虫の多房化と原頭節形成が著しく活発に進行し、この寄生虫の持つ無性生殖的増殖態度が重症免疫不全マウス体内で典型的に現れた。NOD/Shi-*scid* は無鉤囊虫や有鉤囊虫の発育に加え、多包虫増殖に対しても極めて寛容であり、ヒトの多包虫症を研究する上で重要な感染動物モデルとなる可能性を有していた。

実験3 免疫不全 NOD/Shi-*scid* マウスにおける多包虫の多房化と原頭節形成を数量的に評価する試み

【目的】 多包虫の増殖と発育は、囊胞が分裂や出芽により無性生殖的に増殖する多房化と、囊胞内の胚層より産生される原頭節(将来終宿主により取り込まれると成虫へと発育する部分)の形成という二つの事象に集約されうる。従って、これまで行われてきた多包虫病巣の重量測定(量的評価)だけではなく、多房化と原頭節形成の度合いを数値化(質的評価)できれば、異なる宿主間の感受性を比較できる基準を作れるのではないかと考えた。

【材料・方法】 実験2で作成された組織標本と、その後継続して得られた対照群 NOD/Shi-+/+ の感染 15,18,21 週の組織標本各 3 検体を付け加えて検討した。各マウスの腹腔内に散在していた多包虫病巣から最大のものを選び、型のとおりホルマリン固定後、パラフィン切片を作成して HE と PAS 染色を施した。スライドガラス上の封入切片をスキャナー(Epson GT-9700F)で読みとり、画像ソフト(Adobe Photoshop)に取り込んだ後、各切片映像の外周をトレースして pixel 数を得、それより面積を算出した。また、別途実体顕微鏡下で切片中の全囊胞数と原頭節を保有する囊胞数を数えた。

【結果】 算出された切片の面積、全囊胞数および原頭節保有囊胞数を表5に示した。NOD/Shi-*scid* では感染 3 週まで切片面積・全囊胞数・原頭節保有囊胞数ともに著大な変化は見られなかったが、感染 6 週よりいずれにも急激な上昇が認められた。一方、対照群の NOD/Shi-+/+ で切片面積に感染 12 週より緩やかな増加が認められたが、感染 21 週になっても全囊胞数に変化は現れず、原頭節保有囊胞数の増加が観察されたのは感染 15 週以降であった。

多房化と原頭節形成の時間的推移を両系統マウスで比較するため、全囊胞数と原頭節保有囊胞数を切片の面積(mm²)あたりの比に換算し、指数化したものが表6である。NOD/Shi-*scid* の多房化指数と原頭節形成指数は漸次上昇傾向を示しているが、NOD/Shi-+/+ の多房化指数は感染 2 週以降減少の一途を辿り、原頭節形成指数には変化が見られない結果となった。

表5 NOD/Shi-*scid*(n=5mice/wks)と NOD/Shi-*+/+*(n=3mice/wks)における多包虫病巣切片の面積、全嚢胞数、原頭節保有嚢胞数 average ± S.D.

感染後の週	切片面積 mm ²		全嚢胞数		原頭節保有嚢胞数	
	<i>scid</i>	<i>+/+</i>	<i>scid</i>	<i>+/+</i>	<i>scid</i>	<i>+/+</i>
1	16 ± 6	11 ± 5	309 ± 57	127 ± 81	22 ± 10	2 ± 2
2	19 ± 8	13 ± 2	292 ± 102	208 ± 44	29 ± 20	5 ± 3
3	20 ± 7	17 ± 6	231 ± 116	163 ± 59	52 ± 30	3 ± 3
6	47 ± 8	19 ± 8	1190 ± 381	115 ± 39	128 ± 35	1 ± 2
9	64 ± 20	18 ± 6	1808 ± 649	69 ± 57	117 ± 92	1 ± 1
12	82 ± 26	30 ± 8	2604 ± 678	86 ± 33	319 ± 159	4 ± 5
15	NT	62 ± 23	NT	158 ± 7	NT	22 ± 19
18	NT	76 ± 9	NT	161 ± 123	NT	14 ± 16
21	NT	99 ± 51	NT	160 ± 46	NT	50 ± 23

abbreviation *scid* :NOD/Shi-*scid* , *+/+*:NOD/Shi-*+/+*, NT:not tested

表6 NOD/Shi-*scid*(n=5mice/wks)と NOD/Shi-*+/+*(n=3mice/wks)における多包虫の多房化と原頭節形成の指数化 average ± S.D.

感染後の週	多房化指数 (全嚢胞数/切片面積 mm ²)		原頭節形成指数 (原頭節保有嚢胞数/切片面積 mm ²)	
	NOD/Shi- <i>scid</i>	NOD/Shi- <i>+/+</i>	NOD/Shi- <i>scid</i>	NOD/Shi- <i>+/+</i>
1	20.0 ± 5.7	10.8 ± 3.2	1.5 ± 1.0	0.1 ± 0.1
2	17.0 ± 5.6	17.4 ± 6.3	1.8 ± 1.0	0.5 ± 0.3
3	12.6 ± 9.0	9.6 ± 1.1	2.6 ± 1.1	0.2 ± 0.2
6	25.1 ± 5.7	6.3 ± 2.5	2.8 ± 0.7	0.0 ± 0.1
9	28.7 ± 7.3	3.7 ± 2.1	1.8 ± 1.0	0.1 ± 0.1
12	32.9 ± 8.4	3.0 ± 1.2	4.0 ± 1.4	0.1 ± 0.2
15	NT	2.8 ± 1.0	NT	0.4 ± 0.4
18	NT	2.0 ± 1.3	NT	0.2 ± 0.2
21	NT	1.7 ± 0.4	NT	0.5 ± 0.2

NT:not tested

[考察] 多房化指数では感染6週以降 NOD/Shi-*scid* と NOD/Shi-*+/+*との間に明瞭な傾向の違いを見た。NOD/Shi-*scid* では病巣面積の増加割合に比べて、嚢胞数の増加割合が極端に高いため指数が上昇し、一方、NOD/Shi-*+/+*では病巣面積が漸次上昇するにもか

かわらず、嚢胞数に変化が無いいため指数は減少に終始した。このことは、NOD/Shi-*scid*での嚢胞数の増加つまり多房化が著しいことと、逆に NOD/Shi-+/+においては多房化が進まないことに起因している。また、原頭節形成指数でも NOD/Shi-*scid*の方がNOD/Shi-+/+よりかなり高い数値で推移し、*scid* 遺伝子が多包虫の増殖・発育に決定的な役割を果たしていることが判明した。

多包虫の多房化と原頭節形成を指数化して比較することは、中間宿主の感受性や感染時期の推定、さらに薬物の効果判定等にも応用可能な手段であると考えられた。しかし、今回の実験では宿主側の炎症性組織を数値化ができなかったため、今後の課題として残った。

研究発表

学会口頭発表リスト

- 1) 中谷和宏、山崎浩、肖寧、馬木提吾拉木、中尾稔、迫康仁、伊藤亮 免疫不全 NOD/Shi-scid マウスにおける多包虫の原頭節形成と多房化を数量的に評価する試み 第 51 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会、平成 16 年 9 月 17 日、(秋田)
- 2) 佐藤正夫、中谷和宏、中尾稔、肖寧、山崎浩、内藤由香子、伊藤亮 国後島において確認された多包条虫について 第 73 回日本寄生虫学会大会、平成 16 年 4 月 3 日(前橋)
- 3) 中谷和宏、山崎浩、肖寧、馬木提吾拉木、中尾稔、迫康仁、伊藤守、伊藤亮 NOD/Shi-scid マウスにおける多包虫の発育と増殖 第 73 回日本寄生虫学会大会、平成 16 年 4 月 4 日(前橋)
- 4) 山崎浩、James C. Allan、Philip S. Craig、Toni Wandra、Thomas Suroso、中尾稔、迫康仁、中谷和宏、伊藤亮 Multiplex PCR のヒト・テニア症分子疫学への応用 第 73 回日本寄生虫学会大会、平成 16 年 4 月 4 日(前橋)
- 5) A Ito, H Yamasaki, M Nakao, Y Sako, K Nakaya, Y Ishikawa. Echinococcosis: immunological and molecular tools for epidemiology and problems in Japan. 4th Seminar on Food-and Water-born Parasitic Zoonoses, 2nd International Meeting on Gnathostomiasis, Joint International Tropical Medicine Meeting 2003. 2-4 December 2003, Siam City Hotel, Bangkok, Thailand.
- 6) H Yamasaki, JC Allan, MO Sato, M Nakao, Y Sako, K Nakaya, PS Craig, A Ito. Multiplex PCR diagnosis for taeniasis and cysticercosis. 4th Seminar on Food-and Water-born Parasitic Zoonoses, 2nd International Meeting on Gnathostomiasis, Joint International Tropical Medicine Meeting 2003. 2-4 December 2003, Siam City Hotel, Bangkok, Thailand.
- 7) Akira Ito, Hiroshi Yamasaki, Minoru Nakao, Yasuhito Sako, Kazuhiro Nakaya, Sri S Margono, Toni Wandra, Thomas Suroso. Overview of the present situation of taeniid cestode zoonoses in Asia and advances in technology for detection of taeniasis, cysticercosis and echinococcosis. Second Congress of Federation of Asian Parasitologists. 12-14 November 2003, Chiba, Japan.
- 8) Hiroshi Yamasaki, Marcello O.Sato, Minoru Nakao, Yasuhito Sako, Kazuhiro Nakaya,

Dongchuan Qiu, Wulamu Mamuti, James C. Allan, Philip S. Craig and Akira Ito. Multiplex PCR diagnosis for taeniasis/cysticercosis including their causative agents. Second Congress of Federation of Asian Parasitologists. 12-14 November 2003, Chiba, Japan.

9) Ning Xiao, Wulamu Mamuti, Hiroshi Yamasaki, Yasuhito Sako, Minoru Nakao, Kazuhiro Nakaya, Bruno Gottstein, Dominique A. Vuitton and Akira Ito. Usefulness of antibody-affinity-purified and recombinant Em18 antigens for serological differentiation of alveolar echinococcosis from cystic echinococcosis and other parasitic diseases. Second Congress of Federation of Asian Parasitologists. 12-14 November 2003, Chiba, Japan.

10) Wulamu Mamuti, Hiroshi Yamasaki, Yasuhito Sako, Minoru Nakao, Ning Xiao, Kazuhiro Nakaya, Naoki Sato and Akira Ito. Usefulness of native and recombinant antigen B for serodiagnosis of human echinococcosis. Second Congress of Federation of Asian Parasitologists. 12-14 November 2003, Chiba, Japan.

11) Ning Xiao, Tiao-Ying Li, Jiamin Qiu, Minoru Nakao, Xing-Wang Chen, Kazuhiro Nakaya, Hiroshi Yamasaki, Akira Ito. The Tibetan hare *Lepus oiostolus*: a novel intermediate host for *Echinococcus multilocularis*. 第50回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会、平成15年9月27日、(札幌)

学術雑誌掲載論文リスト

1) Satoh M, Nakaya K, Nakao M, Xiao N, Yamasaki H, Naitoh Y, Kondo S, Kobayashi M, Ohtaishi N, Ito A. (2005) *Echinococcus multilocularis* confirmed from Kunashiri Island, 15km far from Hokkaido, Japan. *Am J Trop Med Hyg.* 72(3): (in press)

2) Yamasaki H, Matsunaga S, Yamamura K, Chang CC, Kawamura S, Sako Y, Nakao M, Nakaya K, Ito A. (2004) Solitary Neurocysticercosis Case Caused by Asian Genotype of *Taenia solium* Confirmed by Mitochondrial DNA Analysis. *J Clin Microbiol.* 42:3891-3893.

3) Yamasaki H, Allan JC, Sato MO, Nakao M, Sako Y, Nakaya K, Mamuti W, Craig PS, Ito A. (2004) Multiplex PCR diagnosis for taeniasis and cysticercosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 35(Suppl 1),275-279.

4) Ito A, Wandra T, Yamasaki H, Nakao M, Sako Y, Nakaya K, Margono SS, Suroso T, Gauci C, Lightowler MW. (2004) Cysticercosis/Taeniasis in Asia and the Pacific. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 4(2):95-107.

- 5) Andreassen J, Ito A, Ito M, Nakao M, Nakaya K.(2004) *Hymenolepis microstoma*: direct life cycle in immunodeficient mice. *J.Helminthol.*,78(1):1-5.
- 6) 伊藤亮、迫康仁、中尾稔、山崎浩、中谷和宏、石川裕司(2004) 脳囊虫症(ニューロシスチセルコーシス)の世界における流行の現状と画像、免疫、遺伝子診断法の有用性と限界 臨床検査、8巻3号、335-340.
- 7) Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakao M, Xiao N, Nakaya K, Sato N, Vuitton DA, Piarroux R, Lightowers MW, Craig PS, Ito A.(2004) Molecular Cloning, Expression, and Serological Evaluation of an 8-Kilodalton Subunit of Antigen B from *Echinococcus multilocularis*. *J Clin Microbiol.* 2004 Mar;42(3):1082-1088.
- 8) Yamasaki H, Allan JC, Sato MO, Nakao M, Sako Y, Nakaya K, Qiu D, Mamuti W, Craig PS, Ito A.(2004) DNA Differential Diagnosis of Taeniasis and Cysticercosis by Multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004 Feb;42(2):548-553.
- 9) Xiao N, Li TY, Qiu JM, Nakao M, Chen XW, Nakaya K, Yamasaki H, Schantz PM, Craig PS, Ito A.(2004) The Tibetan hare *Lepus oiostolus*: a novel intermediate host for *Echinococcus multilocularis*. *Parasitol Res.*,92(4):352-353.
- 10) Xiao N, Qiu J, Nakao M, Nakaya K, Yamasaki H, Sako Y, Mamuti W, Schantz PM, Craig PS, Ito A.(2003) Short report: Identification of *Echinococcus* species from a yak in the Qinghai-Tibet plateau region of China. *Am J Trop Med Hyg.*,69(4):445-6.
- 11) Asanuma T, Matsumoto Y, Takiguchi M, Inanami O, Nakao M, Nakaya K, Ito A, Hashimoto A, Kuwabara M. (2003) Magnetic resonance imaging and immunoblot analyses in rats with experimentally induced cerebral alveolar echinococcosis. *Comparative Medicine* 53(6), 522-529
- 12) Xiao N, Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakao M, Nakaya K, Gottstein B, Schatz PM, Lightowers MW, Craig PS, Ito A. (2003) Evaluation of use of recombinant Em18 and affinity-purified Em18 for serological differentiation of alveolar echinococcosis from cystic echinococcosis and other parasitic infections. *Journal of Clinical Microbiology* 41,3351-3353.
- 13) Ito A, Yamasaki H, Nakao M, Sako Y, Okamoto M, Sato MO, Nakaya K, Margono SS, Ikejima T, Kassuku AA, Afonso SM, Ortiz WB, Plancarte A, Zoli A, Geerts S, Craig PS. (2003) Multiple genotypes of *Taenia solium*-ramifications for diagnosis, treatment and control. *Acta Trop.* 87:95-101.

- 14) Margono SS, Ito A, Sato MO, Okamoto M, Subahar R, Yamasaki H, Hamid A, Wandra T, Purba WH, Nakaya K, Ito M, Craig PS, Suroso T.(2003) *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in Papua, Indonesia in 2001 : detection of human worm carriers. J Helminthol. 77:39-42
- 15) 山崎浩、佐藤マルセロ、迫康仁、中尾稔、伊藤亮、中谷和宏、荒木国興(2003) 脳有鉤囊虫症：症例報告と血清診断における最近の進歩 日本臨床寄生虫学雑誌 13:114-117.
- 16) Ito A, Sako Y, Yamasaki H, Mamuti W, Nakaya K, Nakao M, Ishikawa Y.(2003) Development of Em18-immunoblot and Em18-ELISA for specific diagnosis of alveolar echinococcosis. Acta Trop. 85(2):173-182
- 17) Sato MO, Yamasaki H, Sako Y, Nakao M, Nakaya K, Plancarte A, Kassuku AA, Dorny P, Geerts S, Benitez-Ortiz W, Hashiguchi Y, Ito A.(2003) Evaluation of tongue inspection and serology for diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in swine: usefulness of ELISA using purified glycoproteins and recombinant antigen. Vet Parasitol. 111:309-322
- 18) 伊藤亮、石川裕司、北田正博、中谷和宏、笹嶋唯博(2003) 肺エキノコックス症 呼吸 22(1):56-60.