特別講演

旭川医科大学寄生虫学講座におけるエキノコックス症研究の8年間の総括
伊藤 亮 (旭川医科大学寄生虫学講座)

Summary of the recent 8-year research on echinococcosis at Department of Parasitology, Asahikawa Medical College. Ito, A.

旭川医科大学寄生虫学講座における研究の特徴は「寄生虫病に関する分子から流行の現場まで」を総合的に研究しようとする基本戦略である。主な研究はエキノコックス症ならびに囊虫症に代表される人畜共通幼虫症に関する血清、遺伝子診断法の開発と疫学調査への応用である。これらの研究開発に当たり、テニア科条虫のミトコンドリア遺伝子、核遺伝子解析、分子進化学的研究、遺伝子組み換え診断抗原作製、寄生虫の発育分化の遺伝子制御解析、免疫・分子疫学研究が国際共同研究として展開されてきている。今回はエキノコックス症に話題を絞り、1) 多包虫症血清診断法として現在世界最高水準と評価されている Em18 抗原を用いる検査法の開発実績、北半球に分布している多包虫症サンプルにおける Em18 遺伝子の多様性に関する研究、3) 単包虫症血清診断法として最も重要と期待されている Antigen B8/1 を用いる血清診断法の開発実績、4) 多包虫症における Antigen B8 の多様性の証明(EmAntigenB8/1-5)とそれぞれの発育段階特異的遺伝子発現機序、5) 新規エキノコックス条虫(*Echinococcus shiquicus*)の発見と米国立衛生研究所(US-NIH)研究費による中国チベット高地におけるエキノコックス症生態、疫学研究の進行状況についてお話ししたい。

- 2 吸血性アブ類捕獲用トラップに用いる二酸化炭素発生源の検討 (予報)
○助廣 那由, 佐々木 均 (酪農学園大・昆虫).
A preliminary investigation on the CO₂ source to use in the capturing blood sucking tabanid flies. Sukehiro, N. and Sasaki, H.

現在吸血性アブ類の捕獲に化学的誘引源として最も多く用いられているのが二酸化炭素で、ボンベから直接放出する方法や、ドライアイスから放散させる方法が行われ効果を上げている。しかし、その重量や入手の困難さなどから簡単には利用できにくい状況にある。そこで、簡便に入浴剤やドライイーストによって二酸化炭素を発生させる工夫が考えられてきた。そこで今回、入浴剤とドライイーストが発生させる二酸化炭素を用いた吸血性アブ類誘引の効果を、ボンベから直接放出する場合とで比較試験を行った。

試験は 2006 年 7 月 14 日から 3 日間、新ひだか町静内の北大付属牧場構内で、NZI トラップを直線上に 20m 間隔で 3 基設置し、それぞれのトラップに、a)ボンベから毎分 1,500ml 放出、b)入浴剤を 20l の水に 20 分ごと 1 個ずつ投入、c)麻生大の斉藤式ドライイーストによる二酸化炭素発生器によってそれぞれ得られた二酸化炭素を併用して、各 1 時間、吸血性アブ類を捕獲して行った。発生源は全ての地点に設置されるよう 3×3 のラテン方格法に準じて入れ替え、4 反復(n=36)おこなった。

のべ 36 時間の捕獲試験の結果、ニッポンシロフアブを最優位種とする 4 属 11 種、合計 1,625 個体 (全て雌)の吸血性アブ類が捕獲され、ボンベから毎分 1,500ml 放出した場合の捕獲数および、時間による影響を排除した指数とも、他の 2 方法で得られた捕獲数および指数に比べ有意に多く(p<0.001)、他の 2 法の間では有意差がなかった。その結果は最優位種のニッポンシロフアブでも同様であった。現在この違いが二酸化炭素放出量に由来するものか否かを検討するため、2 法による二酸化炭素発生量の測定を行っている。

一般講演

- 1 日本最北の高層湿原、松山湿原における吸血性双翅目昆虫採集の記録
佐々木 均, ○山岡 寿恵, 助廣 那由(酪農学園大・昆虫). A preliminary record of the blood sucking insects collected at the Matsuyama Moor, Bifuka, Hokkaido, the northernmost high moor of Japan. Sasaki, H., Yamaoka, T. and Sukehiro, N.

北海道内における吸血性双翅目昆虫の分布状況を知るための調査の一環として、2006 年 8 月 19,20,21 日の 3 日間、我が国で最も北に位置する高層湿原として知られる、上川支管内美深町にある松山湿原で、ブユ、カ、アブを対象に捕獲調査を行った。

調査地は、標高 797m の矮性のアカエゾマツやダケカンバがまばらに生えた高層湿原で、えぞ松沼、つつじ沼そしてハイ松沼の 3 沼が点在している。北海道自然環境保全地域である。アブ類成虫はオクテノールを化学的誘引源として併用した NZI トラップ 2 基によって、カ類成虫は麻生大学の斉藤先生が開発したドライイーストによる炭酸ガス発生器を併用した自作捕虫器 2 基によってそれぞれ捕獲した。また、随時捕虫網と人囮法によってもブユ類を含めてカやアブ類の捕獲を行った。

その結果、ブユ科ではアシマダラブユの 1 属 1 種が、カ科ではサッポロヤブカ、チシマヤブカ、そしてハマダライエカの 2 属 3 種、また、アブ科ではキンメアブ、コムラアブ、ホソヒゲキボシアブ、ニッポンシロフアブそしてアカウシアブ、ゴマフアブの 4 属 6 種が捕獲され、それら 3 科 7 属 10 種の生息が認められた。なお、今回の調査時期がそれら吸血性双翅目昆虫の発生の終盤にあたったことから、来年度はもっと早い時期に調査を行い完全な記録を残したいと考えている。

- 3 フタトゲチマダニに由来する、血液消化酵素 Longepsin の機能解析、○榊原 伸一¹⁾、ボルドバートル ダンディンスレン¹⁾、八田 岳士¹⁾、玄 学南¹⁾、藤崎 幸蔵¹⁾(¹⁾原虫病研究センター). Functional characterization of Longepsin involved in hemoglobin digestion from the *Haemaphysalis longicornis*. Sakakibara, S., Boldbaatar, D., Hatta, T., Xuan, X. and Fujisaki, K.

マダニは病原微生物の媒介者として重要視されており、なかでも *Haemaphysalis longicornis* は環太平洋地域における人獣の原虫の媒介者として最も重要な生物の一つとされている。

現行のマダニコントロールは殺ダニ剤を主体としているが、耐性ダニの出現、薬剤による環境汚染などの問題が顕在化している。そこで、有効性、安全性により優れたマダニコントロール法として抗マダニワクチンなどの開発が求められている。

抗マダニワクチン開発には、マダニの生存に必要不可欠な生物活性分子の探索と機能解明を行う必要がある。そこで我々は、マダニが完全吸血生物であることに注目し、血液消化酵素がワクチンの標的分子として有効である可能性が高いと考えた。

我が研究室では *H. longicornis* 中腸の EST データベースからアスパラギン酸プロテアーゼを分離し、Longepsin と名づけた。大腸菌タンパク発現系を用いて組換え Longepsin を作製し、これが赤血球中のヘモグロビン(Hb)を消化することを証明した。

我々は引き続き Longepsin の機能解析を行うため、より自然に近い状態で Longepsin を発現できると考え、昆虫細胞タンパク発現系を用いて組換え Longepsin を作製した。アスパラギン酸プロテアーゼ特異的酵素基質を用いて組換え Longepsin の酵素活性を測定した結果、酸性域において活性を持つことが確認できた。また、Longepsin 特異的抗体を作製し、免疫染色を行ったところ、Longepsin は中腸の消化細胞内に局在することが明らかになった。これらの結果より Longepsin による Hb 消化は中腸細胞ライソゾーム内で行われていると考えられる。今後は Longepsin 特異的な Hb 切断部位の探索を進めていく。