

(様式 7)

受理年月日

平成24年5月25日

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成 23 年 5 月 22 日

帯広畜産大学原虫病研究センター長 殿

研究代表者

所属機関

東京大学大学院農学生命科学研究科

職 名 助教

氏 名 後藤 康之



下記の共同研究について別紙のとおり報告します。

記

1. 採択番号 23-共同-10
2. 研究課題名 アフリカトリパノソーマ症簡易血清診断法の開発

研究課題名： アフリカトリパノソーマ症簡易血清診断法の開発

東京大学・大学院農学生命科学研究科・応用免疫学研究室

1. はじめに

人獣共通感染症としてヒトと家畜に多大な被害を与えているアフリカトリパノソーマ症の確定診断は未だ顕微鏡検査による原虫直接検出に依存している。しかし検出感度は低く、検査に要する時間と労力も無視できない。原虫の直接検出にとってかわる簡易診断法として血清学的診断が注目されているが、現在使用されている原虫粗抗原はその特異性および安定供給性が問題である。したがって、より特異性の高い原虫抗原の同定が必須である。

2. 研究経過

現在市販されている血清学的診断テストは原虫粗抗原を使用しているため感度と特異性に問題がある。それに対して、申請者は繰返し配列（TR）を持つ蛋白質を検索することにより抗原性・特異性の両方が高い新規抗原を効率よく同定できることを数々の病原体において証明してきた。本研究ではアフリカトリパノソーマ原虫より TR 蛋白を探索して血清学的診断抗原としての有用性について検討を行った。

3. 研究結果

*Trypanosoma brucei brucei* のタンパク質をコードする 8,898 の遺伝子についてコンピュータ解析を行ったところ、83 (0.93%) が TR 遺伝子であることが明らかになった。原虫感染マウス血清を用いて試験したところ、過去に未同定であり今回コンピュータ探索によって初めて同定された TR 抗原の多くが非感染マウス由来血清と比較して感染マウス血清に対して有意に高い反応性を示すことが明らかになった。次にザンビアにおいて寄生虫学的診断によりアフリカトリパノソーマ症と診断されたウシから採取された血清を用いて解析を行った。陰性コントロールとして日本で採取されたウシ血清を用いて陰性群 OD 値平均 + 3 SD をカットオフ値としたところ、これら TR 抗原の多くが高い感度を有することが確認された。その中でも Tbg4 は感度 (89%)、特異性 (100%) が最も高かった。これらの結果を 1 報の原著論文および 3 報の学会発表として報告した。

原著論文

- Goto Y, Duthie MS, Nguyen TT, Asada M, Kawazu SI, Carter D, Inoue N. 2011. Serological characterizations of tandem repeat proteins for detection of African trypanosome infection in cattle. *Parasitol Int* 60:538-540.

学会発表

- 後藤康之、Carter D、Duthie M、河津信一郎、井上昇、Reed S、松本芳嗣。Commonness and uniqueness of tandem repeat antigens in the trypanosomatid parasites. 第 81 回日本寄生虫学会大会、兵庫医科大学、西宮、2012 年 3 月 23 日。
- 後藤康之、Duthie M、Carter D、Nguyen T、麻田正仁、松本芳嗣、河津信一郎、井上昇。アフリカトリパノソーマ症血清学的診断における TR 抗原の有用性。第 152 回日本獣医学会学術集会、大阪府立大学、堺、2011 年 9 月 21 日。
- Goto Y, Carter D, Duthie MS, Matsumoto Y, Kawazu SI, Inoue N, Reed SG. B-cell antigenicity of tandem repeat antigens in the trypanosomatid parasites. 17th Japanese-German Cooperative Symposium on Protozoan Diseases, September 14, 2011, Nara, Japan

4. まとめ

アフリカトリパノソーマ原虫の TR 抗原は血清学的診断に有用であることが示唆された。ただし、単独抗原での感度は現在のところ最高 89% であり、臨床応用のためにはより高い感度が望まれる。そのため、有用抗原を複数組み合わせることで感度の改善を目指し、平成 24 年度も引き続き原虫病研究センターとの共同研究 (24-共同-8) として融合蛋白の発現コンストラクトの作製や蛋白質発現・精製を行っていく予定である。