

受理年月日	受理番号

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成 28 年 5 月 24 日

採択番号	27 共同-8		
研究部門	生体防御学	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	玄 学南
研究課題名	多数かつ大型のシスト形成能を有するトキソプラズマ株：K-3 株の基本性状解明		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	まさたに たつのり 正谷 達磨	鹿児島大学共同獣医学部・附属越境性動物疾病制御研究センター・特任助教	
研究分担者	まつお ともひで 松尾 智英	鹿児島大学共同獣医学部・獣医解剖学分野・准教授	
	つじお まさし 辻尾 祐志	鹿児島大学共同獣医学部・獣医解剖学分野・助教	
	げん がくなん 玄 学南	帯広畜産大学原虫病研究センター・生体防御学・教授	
研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p>K-3 株は、1970 年代に東京都多摩地区の野良猫より分離されたトキソプラズマ株であり（松井ら、杏林医学会誌、1986）、これまでマウスで継代されてきた。本株はマウス脳において多数かつ大型のシストを形成することが知られており、半年以上の長期間感染によって特異的な神経症状（頭頸部の搔痒）をマウスにもたらす事がある（未発表）。しかし、病原性などその他の性状については不明な点が多い。そこで本研究では、K-3 株の基本的性状を理解することを目的とし、実験動物を用いて本株の宿主体内動態、病原性及びシスト形成の系時的解析を行う。</p>		
研究経過の概要	<p>① K-3 株の分子系統解析：K-3 株の遺伝的な位置づけは現在のところ不明である。そこで、複数のジェノタイピングマーカー遺伝子を解析し、本株のジェノタイピングを試みた。その結果、本株は病原性が比較的弱いとされる Type II に属することが示された。</p> <p>② K-3 株感染マウスにおける原虫の体内動態の系時的解析：ICR マウス（5 週齢、♀）に K-3 株シストを 10-15 個、腹腔内接種によって感染させた。接種後 1-10 日目の毎日、さらに 14、21、28、56、84、112、140 日目に感染マウスを安楽殺し、脳、心臓、肺、肝臓および骨格筋（大腿四頭筋及び咬筋）を採取した。まずこれら各臓器における原虫の分布を経時的に調べる目的で、PCR による原虫 DNA（ターゲット：TgUPRT 遺伝子領域）の検出を行った。その結果、感染後 7 日目から 140 日目までの間、脳および大腿四頭筋において常に PCR 陽性であつ</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>た。一方、心臓、肺、肝臓では、感染後 6 日目から 28 日目には原虫 DNA が検出されたものの、それ以降は検出されなかった。すなわち本株もこれまで報告のあるトキソプラズマ株同様、主に脳・筋肉において長期潜伏することが確認された。</p> <p>③ 次に、PCR に用いた臓器のうち最も長期間 PCR 陽性であった脳において、同一組織サンプルより連続凍結切片を作製し、FITC 標識ドリコスマメレクチンによるシスト染色を行った。感染 140 日後において、ランダムに作製した 30 切片上に認められたシスト数は合計で 41 個であった。これに対し、実験室株として標準的に用いられる PLK 株感染マウスでは、感染 140 日後においても脳組織 30 切片上に認められたシスト数は合計で 3 個であった。</p> <p>④ C57BL/6 マウス (5 週齢、♀) に PLK 株または K-3 株のタキゾイトを腹腔内接種し、K-3 株の病原性を PLK 株と比較した。K-3 株を 10^4 個接種したマウスでは、PLK 株を同量接種したマウスに比べ症状は軽微であり、一過性の体重減少ののち全個体が回復した。すなわち、K-3 株は PLK 株に比べマウスに対する病原性が弱いことが示された。</p> <p>以上の結果より、K-3 株は従来実験室株として国内の研究機関で広く使われている PLK 株に比べ、大型かつ多数のシスト形成能をもつことが示された。またマウスに対する病原性も比較的弱く、マウスを用いた慢性感染実験にも有用であることが示唆された。ただし本株は培養細胞での増殖が著しく遅いため、本研究期間内では <i>in vitro</i> におけるシスト形成能に関する実験を行うことが出来なかった。今後は長期 <i>in vitro</i> 継代することで培養細胞馴化 K-3 株を作出するとともに、本株を利用することでシスト周辺の脳組織の応答を解析する研究を開始していきたい。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>1) 小山田昇平、<u>正谷達隆</u>、辻尾祐志、田仲哲也、松井利博、松尾智英． <i>Toxoplasma gondii</i> K-3株のシスト形成能に関する研究 第158回日本獣医学会学術集会、2015年（青森）</p> <p>2) 永宗喜三郎、福本隼平、山野安規徳、喜屋武向子、<u>正谷達隆</u>、松尾智英、松井利博、村上麻美、高島康弘、佐倉孝哉、松原立真．日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性 第85回日本寄生虫学会、2016年（宮崎）</p>