

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 31年 4月 12日

採択番号	30 共同-4		
研究部門	高度診断学分野	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	横山 直明 教授
研究課題名	新興リーシュマニア症のリザーバー調査法の確立		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	かとう ひろとも 加藤 大智	自治医科大学 医学部 感染・免疫学講座 医動物学部門・教授	
研究分担者			
	水島 大貴	帯広畜産大学原虫病研究センター 特任研究員	
	横山 直明	帯広畜産大学原虫病研究センター 高度診断学分野・教授	
研究期間	平成 30年 4月 4日 ~ 平成 31年 3月 31日		
目的・趣旨	<p>リーシュマニア症は、吸血昆虫サシチョウバエに媒介されるリーシュマニア原虫によって引き起こされる人獣共通原虫感染症である。ヒト病原性のリーシュマニア原虫は約 20 種報告されており、感染種が病態（皮膚型、粘膜皮膚型、内臓型）を決定する要因となる。タイではリーシュマニア症の流行がなく、輸入感染症例しか報告されていなかった。しかしながら、10 年ほど前からタイで内臓型リーシュマニア症の国内発生がみられるようになり、原因種は 2 種の新種の原虫であることが明らかにされた。近年、新興リーシュマニア症はタイ周辺国や欧米、カリブ海諸国からも報告されており、リザーバーやベクターなど、伝播経路やリスク因子の特定は本症を制御する上では不可欠である。本研究は、新興リーシュマニア症の感染経路を明らかにするため、イムノクロマトグラフィーによる簡便なリザーバー調査系を確立することを目的とする。</p>		
研究経過の概要	<p>新興リーシュマニア症の原因となる 2 種の原虫のうち、より多くの感染が報告されている <i>Leishmania martiniquensis</i> の K39 抗原および Heat Shock Protein 70 (HSP70) を候補抗原に選定した。これら 2 種の抗原について、大腸菌発現系により組換えタンパクを発現・精製し、また、作製した組換えタンパクを用いて、ウサギ免疫血清を得た。これらの組換えタンパク抗原および抗血清を用いてイムノクロマトストリップを作製した。陽性コントロール血清を用いて感度を検討したが、作製したストリップでは検出感度が低く、実用化にはさらなる改善が必要であると考えられた。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>本研究は、新興リーシュマニア症の感染経路を明らかにするため、イムノクロマトグラフィーによる簡便なリザーバー調査系を確立することを目的とする。新興リーシュマニア症の原因となる 2 種の原虫 (<i>Leishmania martiniquensis</i> および <i>Leishmania siamensis</i>) のうち、より多くの感染が報告されている <i>L. martiniquensis</i> の K39 抗原および Heat Shock Protein 70 (HSP70) を候補抗原に選定し、これら 2 種の抗原をコードする遺伝子を pET vector に組み込み、大腸菌発現系を用いて組換えタンパクを作製した。組換えタンパクは Thioredoxin-6xHistidine (Trx-His) との融合タンパクとして発現・精製した (Trx-His-LmK39, Trx-His-LmHSP70)。これらの組換えタンパクとアジュバントをウサギに免疫し、抗体価の高い抗血清を得ることができた。またイムノクロマトグラフィーに用いる抗原として、<i>L. martiniquensis</i> K39 抗原および HSP70 をコードする遺伝子を pCold vector に組み込み、6xHistidine (His) との融合タンパクとして発現・精製した (His-LmK39, His-LmHSP70)。これらの抗原と金コロイドを結合させコンジュゲートパッドを作製し、また、抗原と抗血清を原虫病研究センター所有のテストストリップ作製装置 BIODOT によりメンブレンに塗布してイムノクロマトグラフィーのストリップを作製した。陽性コントロール血清を用いて感度を検討したが、作製したストリップでは検出感度が低く、実用化にはまだまだ改善が必要であると考えられた。</p> <div style="text-align: center;"> <table border="0"> <tr> <td></td> <td colspan="3">LmK39</td> <td colspan="4">LmHSP70</td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="3">conc. (µg/mL)</td> <td colspan="4">conc. (µg/mL)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>200</td> <td>300</td> <td>400</td> <td>*400</td> <td>200</td> <td>300</td> <td>400</td> </tr> </table>  </div>		LmK39			LmHSP70					conc. (µg/mL)			conc. (µg/mL)					200	300	400	*400	200	300	400
	LmK39			LmHSP70																					
	conc. (µg/mL)			conc. (µg/mL)																					
	200	300	400	*400	200	300	400																		
<p>研究成果の発表</p>	<p>特記事項なし</p>																								