

8. 分野等の研究活動

節足動物衛生工学分野

-----◆----- 准教授 福本晋也
(Shinya Fukumoto)

1. 研究テーマの概要

節足動物によって媒介される感染症には、マラリア・眠り病・日本脳炎・フィラリアなどがあります。これらの感染症の原因となる寄生虫・ウイルス・細菌の伝播には媒介節足動物、すなわち“ベクター”が必須となります。言い換えれば、病原体のベクターステージを断ち切ることで、動物やヒトへの感染を防ぐことができます。このコンセプトに基づき、病原体がベクターの中でどのように振る舞っているのか？ベクターと病原体の間にはどのような相互作用があるのか？はたしてベクターにとって病原体とは何物なのか？このような事象について、病原体とベクター昆虫がおりなす特有の生命現象を、実験室レベルでの基礎的実験データから、感染症アウトブレイク地域での国内外フィールド調査までを有機的に統合し、そして徹底的に解析することで、ベクターステージコントロールによる原虫病の制御を実現するため研究を行っています。また、近年問題となっているエゾシカなどの野生動物について、人獣共通感染症や家畜感染症のレゼルボアとしての意義を明らかにするため、地元根ざした調査研究を実施しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ 媒介蚊における病原体感染分子機構
- ・ ブルキナファソにおけるマラリア媒介蚊の疫学調査
- ・ 西表島における蚊媒介性寄生虫感染症の包括的調査
- ・ エゾシカ保有病原体叢の網羅的解析

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ マラリア原虫は昆虫と哺乳動物の生物学的に異なる2宿主間を渡り歩き、感染を成立させます。マラリア原虫の感染メカニズム解析には、遺伝子組換え原虫が必須のツールとなってきています。ネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* は全生活環を実験室で再現可能であることから、マラリアのモデルとして研究に用いられています。本原虫における遺伝子操作では、*in vivo* ピリメタミン、WR99210 薬剤選択システムが常用されています。しかしながらそれらの併用が難しいことに加え、宿主毒性薬剤を使用できないという制約から、他の選択システムがなく、遺伝子操作の制限が大きいです。この問題を解決し、より自由度の高い遺伝子操作を可能にするため、我々は *P. berghei* における *in vitro* 薬剤選択法の開発を進めました。その結果、薬剤存在下の1周期培養・マウス体内増殖を繰り返す新たな選択法を考案し、本法を用いピューロマイシン・ブラストサイジン選択システムの確立に成功しました。この研究成果は、より自由度の高い組換えネズミマラリア原虫作製の機会を提供するものであり、マラリア研究の進展に寄与することが期待されます(論文リスト1)。

- ・ 近年の野生鳥獣被害と捕獲必要性の増加を受け、野生鳥獣肉の食利用への期待が高まっています。しかしながら、その安全性の担保については理想的状態とは言えず、公衆衛生上のリスク要因であると懸念されています。そこで、日本で最も増加が問題となっている野生鳥獣であるシカを対象に、その主要生息地域である北海道東部地方を調査モデル地域として研究を実施しました。エゾシカサンプルの収集・微生物叢について次世代シーケンサーを用いた解析を実施しデータの集積を行いました。その結果、肝蛭、腸管出血性大腸菌、クリプトスポリジウム、住肉胞子虫、住血原虫など、多用な食中毒に関連する病原体をエゾシカが保有していることが明らかになりましたが、その中でもヒトの下痢症で検出される微生物種であるクリプトスポリジウム、ブラストシスティス、腸管出血性大腸菌について詳細に解析を行ったところ、ヒトへの病原性を持つクリプトスポリジウム種は検出されない、ST14 型ブラストシスティスがエゾシカに蔓延している、O26 をはじめとする多様な血清型の出血性大腸菌がエゾシカから高い割合で検出されることが明らかとなりました(論文リスト 2)。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本衛生動物学会
- ・ 日本分子生物学会
- ・ 日本寄生虫学会
- ・ 日本獣医学会

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（* 責任著者）

1. Akira Soga, Hironori Bando, Mami Ko-ketsu, Hirono Masuda-Suganuma, Shin-ichiro Kawazu and **Shinya Fukumoto**. High efficacy in vitro selection procedure for generating transgenic parasites of *Plasmodium berghei* using an antibiotic toxic to rodent hosts. **Scientific Reports**. 2017; 7: 4001. PMID: 28638105
2. Madoka Ichikawa-Seki, Tomoko Shiroma, Tatsuya Kariya, Ryo Nakao, Yuma Ohari, Kei Hayashi, **Shinya Fukumoto**. Molecular characterization of *Fasciola* flukes obtained from wild sika deer and domestic cattle in Hokkaido, Japan. **Parasitology International**. 2017; 66: 519-521. PMID: 28396295

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

1. 平成 28 年度 食品の安全確保推進事業（厚生労働省）、野生鳥獣保有微生物種の網羅的解析による喫食リスク低減下に関する研究（H28-食品-若手-012）、代表、平成 28 年度～平成 29 年度
2. 平成 28 年度 基盤研究（B）（一般）（文部科学省）ベクター媒介性病原体における宿主トランジション応答機構（16H05026）、代表、平成 28 年度～平成 30 年度
3. 平成 28 年度 挑戦的萌芽研究（文部科学省）原虫ヴェノムデリバリーシステムを用いたベクター媒介性感染症制御法の開発（16H05026）、代表、平成 28 年度～平成 29 年度
4. 平成 27 年度 基盤研究（B）（一般）（文部科学省）多機能性ハイブリッド型ワクチンプラットフォームを基盤としたマラリアワクチンの開発（15H04723）、分担、平成 27 年度～平成 29 年度
5. 平成 26 年度 基盤研究（B）（海外学術調査）（文部科学省）ベクター病原体媒介能におけるビオティック・アビオティック因子の相関に関する研究（26304038）、代表、平成 26 年度～平成 29 年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

1. 十勝毎日新聞（2017年7月2日18面）遺伝子組み換えマウスマラリア原虫の作製法確立についての記事掲載
2. 北海道新聞（2017年10月11日22面）マウスマラリア原虫の遺伝子組み替え体を効率的に作製する方法についての記事掲載

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. Antoine Sanon : University of Ouagadougou, MEMORANDUM OF AGREEMENT, BETWEEN UFR LIFE AND EARTH SCIENCE, UNIVERSITE OUAGA I PR JOSEPH KI-ZERBO, BURKINA FASO AND NATIONAL RESEARCH CENTER FOR PROTOZOAN DISEASES, OBIHIRO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE, JAPAN、2016年6月～2021年5月、学術協定
2. 吉田栄人：金沢大学薬学系、多機能性ハイブリッド型ワクチンプラットフォームを基盤としたマラリアワクチンの開発、平成26年度～平成29年度、科学研究費補助金
3. 筏井宏実：北里大学獣医学部、マラリア原虫の媒介蚊体内ステージのオーシスト形成機構の解明、平成29年度原虫病研究センター共同研究

1. 研究テーマの概要

当研究室では、種々のバベシア症における宿主免疫機構の解明と新規予防・治療法の開発に関する研究を行っています。1) バベシアに感染し、回復した動物は同じ種のバベシア或いは近縁種のバベシアの再感染に抵抗性を示すが、その抵抗性免疫獲得の機構はまだよく分かっていません。この感染防御免疫機構が解明できれば、新規組換えワクチン開発につながります。2) バベシア症における溶血性貧血の原因には、赤血球内における原虫増殖による直接的破壊によるものと、未感染赤血球に対する自己抗体による間接的破壊（自己免疫性）によりものがあります。自己免疫性溶血性貧血機構の解明は、新規治療法の開発につながります。3) バベシアのゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム解析などによるゲノムワイドなワクチン候補分子・薬剤標的分子の探索を行っています。4) 宿主の感染防御免疫担当細胞を有効に刺激しうる組換えワクチンの開発と自己免疫性溶血性貧血を抑制しうる新規治療法の開発を目指しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ バベシア原虫感染に対する宿主感染防御免疫機構の解明
- ・ バベシア症における自己免疫性貧血の分子機構の解明
- ・ バベシア原虫のゲノム解析
- ・ バベシア症に対する組換えワクチンの開発
- ・ バベシア症に対する治療法の開発
- ・ マダニ媒介原虫感染症の分子疫学調査

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ マダニに媒介される赤血球内寄生原虫であるバベシアは約 100 種類同定されているが、牛に寄生する 3 種類 (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia ovata*) のみについて遺伝子組換え方法が確立されています。他のバベシアについても遺伝子組換え方法の導入が求められています。そこで、犬に寄生するバベシア (*Babesia gibsoni*) について遺伝子組換え方法の確立を試みました。最初は、*Babesia gibsoni* の伸長因子 α のプロモーター領域を特定し、GFP 遺伝子発現プラスミドを構築して虫体に導入したところ、GFP 一過性発現虫体の作製に成功しました。次に、伸長因子 α プロモーターを含む 6 種類の *Babesia gibsoni* のプロモーターの制御を受けるルシフェラーゼ発現プラスミドを作製し、異なるプロモーターの活性を測定したところ、アクチンプロモーターが最も強い活性を有することが判明しました。また、*Babesia gibsoni* と *Babesia bovis* の伸長因子 α とアクチンプロモーターをそれぞれ、異種虫体に導入してそのプロモーター活性を調べたところ、これらのプロモーターは異種虫体においても機能することを突き止めました。さらに、これらのプロモーターを用いた、*Babesia gibsoni* の外来遺伝子安定発現系の確立にも成功しました。（論文リスト 3、6）

- ・ バベシア属の原虫の中、*Babesia microti* はネズミ由来のバベシアですが、人にも感染する人獣共通感染症の病原原虫としても知られています。この原虫感染症に対する組換えワクチン開発を試みました。バベシア原虫の赤血球侵入に関わるとされる Apical Membrane Antigen 1 (BmAMA1)と Rhoptry Neck Protein 2 (BmRNP2) をクローニングし、組換え BmAMA1 と組換え BmRNP2 を作製しました。これらの組換えタンパク質を単独あるいは組み合わせでハムスターに免疫した後に、*Babesia microti* で攻撃感染させたところ、組み合わせで免疫した群のみにおいて有意な感染防御効果が認められました。この結果により、これら2種類の抗原の組み合わせが *Babesia microti* 感染症に対する有効なワクチン候補になりうるということが明らかとなりました。(論文リスト 14)
- ・ アフリカにおける家畜のマダニ媒介感染症の被害は甚大とされているが、西アフリカに位置しているベナン国における疫学調査とリスク分析のデータはほとんどないのが現状であります。ブラジルからの輸入牛により侵入したとされるオウシマダニ (*Rhipicephalus microplus*) 分布地域(南部地域)と非分布地域(北部地域)における牛のマダニ媒介病原体(バベシア属、タイレリア属、アナプラズマ属)の寄生状態を調べました。その結果、南部地域における感染率は、北部地域より有意に高く、オウシマダニの分布がこれらの感染率の差に影響することが示唆されました。これらの結果から、オウシマダニの積極的駆除がベナン国におけるマダニ媒介感染症の制圧に有効であることが明らかとなりました。(論文リスト 2)
- ・ 南アフリカ、スーダンおよびトルコにおける小型反芻動物(羊・山羊)におけるマダニ媒介感染症の流行実態調査を広範囲に渡り実施しました。南アフリカにおいてはアナプラズマ属(36.3%)、タイレリア属(19.8%)、エーリキア属(14.3%)が、スーダンにおいてはアナプラズマ属(60.1%)、タイレリア属(12.9%)が、トルコにおいてはアナプラズマ属(60.0%)、タイレリア属(35.9%)、バベシア属(5.2%)がそれぞれ重要なマダニ媒介病原体であることが明らかとなりました。アナプラズマ属、タイレリア属、エーリキア属感染動物には顕著な臨床症状は認められなかったが、バベシア属感染動物には重症の貧血症状が認められました。これらの結果は、養羊産業が盛んなこれらの地域におけるマダニ媒介感染症制御対策の重要性を強く提起するものであります。(論文リスト 1、4、12、16)

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医寄生虫学会理事
- ・ 日本寄生虫学会理事
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本熱帯医学会評議員

② 主催した学会、研究会等

- ・ 中日国際シンポジウム「マダニ媒介感染症研究の現状と展望」(平成 29 年 6 月 24 日、上海)

獣医学研究所)

- ・ 国際シンポジウム「マダニとマダニ媒介感染症の制御戦略」(日本学術振興会拠点形成事業-アジア・アフリカ学術基盤形成型)(平成 29 年 7 月 26 日、帯広畜産大学原虫病研究センター)
- ・ スリランカにおける原虫病研究センター元 JICA 研修員・大学院生・共同研究者らによる研究集会(平成 29 年 8 月 29 日、コロンボ)

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 平成 29 年度研究成果発表等(原著論文、総説・著書)

原著論文(*責任著者)

1. Seung-Hun Lee, Ehab Mossaad, Abdalla Mohamed Ibrahim, Ahmed Ali Ismail, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, Yang Gao, Huanping Guo, Jixu Li, Artemis Efstratiou, Peter Musinguzi, Tamador EE Angara, Keisuke Sukanuma, Noboru Inoue, **Xuenan Xuan***. Detection and molecular characterization of tick-borne pathogens infecting sheep and goats in Blue Nile and West Kordofan states in Sudan. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9: 598-604. PMID: 29426590
2. Paul Franck Adjou Moumouni, Gilbert Luc Aplogan, Hirotaka Katahira, Yang Gao, Huanping Guo, Artemis Efstratiou, Charoonluk Jirapattharasate, Guanbo Wang, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki, **Xuenan Xuan***. Prevalence, risk factors, and genetic diversity of veterinary important tick-borne pathogens in cattle from *Rhipicephalus microplus*-invaded and non-invaded areas of Benin. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9: 450-464. PMID: 29307783
3. Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Shinuo Cao, Masahito Asada, Guanbo Wang, Yang Gao, Huanping Guo, Jixu Li, Patrick Vudriko, Artemis Efstratiou, Aaron Edmond Ringo, Seung-Hun Lee, Hassan Hakimi, Tatsunori Masatani, Fujiko Sunaga, Shin-ichiro Kawazu, Junya Yamagishi, Lijun Jia, Noboru Inoue, **Xuenan Xuan***. Identification and characterization of interchangeable cross-species functional promoters between *Babesia gibsoni* and *Babesia bovis*. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9: 330-333. PMID: 29174364
4. Aaron Edmond Ringo, Paul Franck Adjou Moumouni, Moeti Taioe, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Guanbo Wang, Yang Gao, Huanping Guo, Seung-Hun Lee, Weiqing Zheng, Artemis Efstratiou, Jixu Li, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki, Oriol Thekisoe, **Xuenan Xuan***. Molecular analysis of tick-borne protozoan and rickettsial pathogens in small ruminants from two South African provinces. **Parasitology International**. 2018; 67: 144-149. PMID: 29155280
5. Ahmed Abdelmoniem Mousa, Daniel Barry Roche, Mohamad Alaa Terkawi, Kyohko Kameyama, Ketsarin Kamyinkird, Patrick Vudriko, Akram Salama, Shinuo Cao, Sahar Orabi, Hanem Khalifa, Mohamed Ahmed, Mabrouk Attia, Ahmed Elkirdasy, Yo-

- shifumi Nishikawa, Xuenan Xuan*, Emmanuel Cornillot. Human babesiosis: Indication of a molecular mimicry between thrombospondin domains from a novel *Babesia microti* BmP53 protein and host platelets molecules. **PLoS One**. 2017; 12: e0189383. PMID: 29040286
6. Mingming Liu, Masahito Asada, Shinuo Cao, Paul Franck Adjou Moumouni, Patrick Vudriko, Artemis Efstratiou, Hassan Hakimi, Tatsunori Masatani, Fujiko Sunaga, Shin-ichiro Kawazu, Junya Yamagishi, Xuenan Xuan*. Transient transfection of intraerythrocytic *Babesia gibsoni* using *elongation factor-1 alpha* promoter. **Molecular and Biochemical Parasitology**. 2017; 16: 56-59. PMID: 28729071
 7. Mingming Liu, Lijun Jia, Shinuo Cao, Paul Franck Adjou Moumouni, Charoonluk Jirapattharasate, Guanbo Wang, Yang Gao, Huanping Guo, Mo Zhou, Yu LZ, Xue SJ and Xuenan Xuan*. Molecular detection of *Theileria* species in cattle from Jilin province, China. **Tropical Biomedicine**. 2017; 34: 598-606.
 8. Weiqing Zheng, Haiying Chen, Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Artemis Efstratiou, Liu ZB and Xuenan Xuan*. First evidence of *Mycoplasma haemocanis* in China. **Tropical Biomedicine**. 2017; 34: 983-990.
 9. Huanping Guo, Ferda Sevinc, Onur Ceylan, Mutlu Sevinc, Ege Ince, Yang Gao, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Artemis Efstratiou, Guanbo Wang, Shinuo Cao, Mo Zhou, Charoonluk Jirapattharasate, Aaron Edmond Ringo, Weiqing Zheng, Xuenan Xuan*. A PCR survey of vector-borne pathogens in different dog populations from Turkey. **Acta Parasitologica**. 2017; 62: 533-540. PMID: 28682765
 10. Ketsarin Kamyngkird, Shinuo Cao, Bumduuren Tuvshintulga, Akram Salama, Ahmed Abdelmoniem Mousa, Artemis Efstratiou, Yoshifumi Nishikawa, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan*. Effects of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors on the growth of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in vitro. **Experimental Parasitology**. 2017; 176: 59-65. PMID: 28286324
 11. Charoonluk Jirapattharasate, Paul Franck Adjou Moumouni, Shinuo Cao, Aiko Iguchi, Mingming Liu, Guanbo Wang, Mo Zhou, Patrick Vudriko, Artemis Efstratiou, Tanasak Changbunjong, Sivapong Sungpradit, Parntep Ratanakorn, Walasinee Moonarmart, Poonyapat Sedwisai, Thekhawet Weluwanarak, Witsanu Wongsawang, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan*. Molecular detection and genetic diversity of bovine *Babesia* spp., *Theileria orientalis*, and *Anaplasma marginale* in beef cattle in Thailand. **Parasitology Research**. 2017; 116: 751-762. PMID: 28028631
 12. Mo Zhou, Shinuo Cao, Ferda Sevinc, Mutlu Sevinc, Onur Ceylan, Sepil Ekici, Charoonluk Jirapattharasate, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Guanbo Wang, Aiko Iguchi, Patrick Vudriko, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan*. Molecular detection and genetic characterization of *Babesia*, *Theileria* and *Anaplasma* amongst apparently healthy sheep and goats in the central region of Turkey. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2017; 8: 246-252. PMID: 27908771
 13. Weiqing Zheng, Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Xiaoqing Liu, Artemis Efstratiou, Zhanbin Liu, Yangqing Liu, Huiying Tao, Huanping Guo, Guanbo Wang, Yang Gao, Zifen Li, Aaron Edmund Ringo, Charoonluk Jirapattharasate, Haiying Chen, Xuenan Xuan*. First molecular detection of tick-borne pathogens in dogs from

- Jiangxi, China. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 79: 248-254. PMID: 27890889
14. Guanbo Wang, Artemis Efstratiou, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Charoonluk Jirapattharasate, Huanping Guo, Yang Gao, Shinuo Cao, Mo Zhou, Hiroshi Suzuki, Ikuo Igarashi, **Xuenan Xuan***. Expression of truncated *Babesia microti* apical membrane protein 1 and rhoptry neck protein 2 and evaluation of their protective efficacy. **Experimental Parasitology**. 2017; 172: 5-11. PMID: 27876473
 15. Adrian P Ybañez, Rochelle Haidee D Ybañez, MaxFrancis G Talle, Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, **Xuenan Xuan***. First report on *Babesia vogeli* infection in dogs in the Philippines. **Parasitology International**. 2017; 66: 813-815. PMID: 27713098
 16. Ferda Sevinc, Mo Zhou, Shinuo Cao, Onur Ceylan, Mehmet Fatih Aydin, Mutlu Sevinc, **Xuenan Xuan**. Haemoparasitic agents associated with ovine babesiosis: A possible negative interaction between *Babesia ovis* and *Theileria ovis*. **Veterinary Parasitology**. 2018; 252: 143-147. PMID: 29559137
 17. Rochelle Haidee D Ybanez, Adrian P Ybanez, Lyra Lee A Arnado, Laila Monika P Belarmino, Knowlie Gay F Malingin, Paul Bien C Cabilete, Ziggy Ryan O Amores, Maxfrancis G Talle, Mingming Liu, **Xuenan Xuan**. Detection of *Ehrlichia*, *Anaplasma*, and *Babesia* spp. in dogs of Cebu, Philippines. **Veterinary World**. 2018; 11: 14-19. PMID: 29479151
 18. Patrick Vudriko, James Okwee-Acai, Joseph Byaruhanga, Dickson Stuart Tayebwa, Robert Omara, Jeanne Bukeka Muhindo, Charles Lagu, Rika Umemiya-Shirafuji, **Xuenan Xuan**, Hiroshi Suzuki. Evidence-based tick acaricide resistance intervention strategy in Uganda: Concept and feedback of farmers and stakeholders. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9: 254-265. PMID: 28978456
 19. Weiqing Zheng, Yangqing Liu, Huiying Tao, Zifen Li, **Xuenan Xuan**, Xiaoqing Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Yayun Wu, Wenqing Liu, Haiying Chen. First molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* in rodent populations of Nanchang, China. **Japanese Journal of Infectious Diseases**. 2018; 71: 129-133. PMID: 29491242
 20. Adrian Miki C Macalanda, Jose Ma M Angeles, Kharleezelle J Moendeg, Anh Tm Dang, Luna Higuchi, Noboru Inoue, **Xuenan Xuan**, Masashi Kirinoki, Yuichi Chigusa, Lydia R Leonardo, Elena A Villacorte, Pilarita T Rivera, Yasuyuki Goto, Shin-Ichiro Kawazu. Evaluation of *Schistosoma japonicum* thioredoxin peroxidase-1 as a potential circulating antigen target for the diagnosis of Asian schistosomiasis. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2018; 80: 156-163. PMID: 29187698
 21. Ehab Mossaad, Rawan A Satti, Abdeen Fadul, Keisuke Suganuma, Bashir Salim, E A Elamin, Simon Peter Musinguzi, **Xuenan Xuan**, Noboru Inoue. The incrimination of three trypanosome species in clinically affected German shepherd dogs in Sudan. **Parasitology Research**. 2017; 116: 2921-2925. PMID: 28856450
 22. Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, James Okwee-Acai, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Kozo Fujisaki, **Xuenan Xuan**, Hiroshi Suzuki. Genetic mu-

- tations in sodium channel domain II and carboxylesterase genes associated with phenotypic resistance against synthetic pyrethroids by *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks in Uganda. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 2017; 143: 181-190. PMID: 29183590
23. Sylvatrie-Danne Dinzouna-Boutamba, Sanghyun Lee, Ui-han Son, Hae Soo Yun, So-Young Joo, Sookwan Jeong, Man Hee Rhee, Dongmi Kwak, **Xuenan Xuan**, Yeonchul Hong, Dong-Il Chung, Youn-Kyoung Goo. Determination of multiple-clone infection at allelic dimorphism site of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein-1 in the Republic of Korea by pyrosequencing assay. **Acta Tropica**. 2017; 176: 300-304. PMID: 28847673
 24. Nthatsi Innocentia Molefe, Shino Yamasaki, Adrian Miki C Macalanda, Keisuke Sukanuma, Kenichi Watanabe, **Xuenan Xuan**, Noboru Inoue. Oral administration of azithromycin ameliorates trypanosomiasis in *Trypanosoma congolense*-infected mice. **Parasitology Research**. 2017; 116: 2407-2415. PMID: 28674747
 25. Michihito Tagawa, Yuhei Yamamoto, Genya Shimbo, Aiko Iguchi, **Xuenan Xuan**, Mizuki Tomihari, Kazuro Miyahara. Gene and protein expression of a soluble form of CTLA-4 in a healthy dog. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 79: 871-875. PMID: 28392507
 26. Abdelbaset Eweda Abdelbaset, Hend Alhasan, Doaa Salman, Mohamed Hassan Karam, Mahmoud Abd Ellah Rushdi, **Xuan Xuenan**, Makoto Igarashi. Evaluation of recombinant antigens in combination and single formula for diagnosis of feline toxoplasmosis. **Experimental Parasitology**. 2017; 172: 1-4. PMID: 27876472
 27. Batdorj Davaasuren, Tovuu Amgalanbaatar, Simon Peter Musinguzi, Keisuke Sukanuma, Davaajav Otgonsuren, Ehab Mossaad, Sandagdorj Narantsatsral, Banzragch Battur, Badgar Battsetseg, **Xuenan Xuan**, Noboru Inoue. The evaluation of GM6-based ELISA and ICT as diagnostic methods on a Mongolian farm with an outbreak of non-tsetse transmitted horse trypanosomiasis. **Veterinary Parasitology**. 2017; 244: 123-128. PMID: 28917303
 28. Ehab Mossaad, Bashir Salim, Keisuke Sukanuma, Peter Musinguzi, Mohammed A Hassan, EA Elamin, GE Mohammed, Amel O Bakhiet, **Xuenan Xuan**, Rawan A Satti and Noboru Inoue. *Trypanosoma vivax* is the second leading cause of camel trypanosomiasis in Sudan after *Trypanosoma evansi*. **Parasites & Vectors**. 2017; 10: 176. PMID: 28403897

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

1. 組換えバベシア原虫作製法の確立と応用、中日国際シンポジウム：マダニ媒介感染症研究の現状と展望、平成 29 年 6 月 24 日、中国上海獣医学研究所

9. 獲得研究費

1. 平成 29 年度 JSPS 研究拠点形成事業（アジア・アフリカ学術基盤形成型）、マダニ媒介原虫感染症の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、代表、平成 29 年度～31 年度
2. 平成 29 年度 科研費特別研究員奨励費、東南アジアにおける牛マダニ媒介原虫病の疫学調査と制御対策へのアプローチ、代表、平成 29 年度～30 年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. 山岸潤也：北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、フタトゲチマダニのドラフトゲノム解析、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究
2. 正谷達膳：鹿児島大学共同獣医学部、トキソプラズマ虫体細胞膜の生体膜マイクロドメインをナノスケールレベルで可視化する、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究

1. 研究テーマの概要

医学分野で重要なマラリア原虫は、世界で年間 3~5 億人が罹患、年間 200 万人もの命を奪っています。わが国にも存在するトキソプラズマはその感染による流産や新生児の先天性トキソプラズマ症を引き起こし、少子化が進む現代社会には無視できない問題です。また畜産業界では、家畜原虫感染症による家畜の生産性の低下が問題視され、ネオスポラの感染による牛の流産例が全国的に見つかっており、被害の拡大が懸念されています。我々の研究室では、原虫感染による脳神経系の機能異常や宿主動物の行動変化、流産や垂直感染のメカニズムに関する研究を行っています。また、炎症反応や免疫抑制を制御する原虫因子の同定と解析を進めています。これら科学的な知見を基盤に、多機能性リポソーム等を利用することでワクチン抗原を効率よくリンパ系組織へ輸送し、免疫担当細胞を効果的に刺激できる新型次世代ワクチンの開発を行っています。さらに、マウス感染モデルと自然宿主を対象にした感染実験により、ワクチンの実用化を目指しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ トキソプラズマ感染による宿主動物の異常行動の解析と中枢神経系の機能破綻メカニズムの解明
- ・ トキソプラズマ、ネオスポラ由来因子による宿主免疫攪乱メカニズムの解明
- ・ マラリア原虫による貧血、トキソプラズマ及びネオスポラによる流産の病態発症メカニズムの解明
- ・ 多機能性リポソームによる病原性原虫に対するワクチン開発
- ・ 天然物からの抗原虫薬の探索
- ・ ウシの下痢症に起因する腸内細菌叢の解析

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ Toll-like receptor (TLR) 2 は TLR ファミリーに属する受容体タンパク質で、トキソプラズマに対する防御免疫の作動に不可欠であることが知られています。また神経炎症等に関連し、中枢神経系におけるその病理学的な機能の研究も進みつつあります。本研究ではトキソプラズマ感染時、脳細胞で TLR2 が担う機能の解明を目指し、TLR2 欠損マウスを用いたトランスクリプトーム解析を行いました。TLR2 欠損型および野生型マウスの脳組織からアストロサイト (AS)、ミクログリア (MG)、ニューロン (Neu) を採取、培養し、トキソプラズマ PLK 株のタキゾイトを感染後、mRNA を抽出して RNA-seq 解析を行いました。まず非感染細胞と比較して感染細胞で発現が変動した遺伝子を抽出し、さらにその発現変動遺伝子を細胞種ごとに TLR2 欠損型と野生型で比較解析しました。AS および MG では、野生型で感染により発現が変動した遺伝子の多くが TLR2 欠損型では変動が見られなくなりました。一方 Neu では、他の細胞種に比べて TLR2 の欠損により発現が変動しなくなる遺伝子の数が少なくなりました。発

現変動が見られなくなった遺伝子に対して Gene Ontology (GO) 解析を行ったところ、AS と MG ではともに免疫応答に関連した GO が上位を占めましたが、Neu では核や代謝関連の GO が上位に現れ、免疫関連は順位を下げました。これらの結果から、AS や MG では免疫細胞と同様、TLR2 がトキソプラズマに対する防御免疫に重要であることが示されました。また、生体内で Neu には他の細胞種よりも原虫の感染が多いことが知られていますが、これは TLR2 を介した原虫に対する防御経路を Neu が欠いているためであることが示唆されました。本研究の結果は、トキソプラズマ感染における脳神経系の役割の理解に貢献すると考えます (論文リスト3)

- ・ 細胞内寄生原虫トキソプラズマの妊娠期の感染は流産や胎児への先天性トキソプラズマ症を引き起こし、重篤化します。しかし、感染による流産発症メカニズムは明らかになっていません。今回、トキソプラズマ感染によるマウスの流産モデルを確立し、その病態について解析しました。妊娠子宮組織の遺伝子発現解析により、ケモカイン受容体 CCR5 の感染依存的な発現上昇が認められました。そこで、CCR5 遺伝子欠損 (CCR5KO) マウスと野生型マウスを用い、トキソプラズマ感染による妊娠期病態を比較しました。野生型マウスの妊娠3日めにトキソプラズマを感染させると、すべての個体で胚の発育不良とアポトーシスが認められました。一方、CCR5KO マウスでは胚の生存率が上昇し、妊娠10日めで約8割の個体で妊娠が維持されていました。この病態メカニズムには CCR5 とそのリガンドの相互作用が推測され、天然型リガンドの RANTES (CCL5)あるいは原虫由来リガンド Cyclophilin-18 の関与が示唆されます。これら受容体とリガンドの相互作用を標的とした創薬は、先天性トキソプラズマ症の対策に貢献すると思われます。(論文リスト5)
- ・ トキソプラズマの感染は世界の公衆衛生の諸問題に大きな影響を与えています。トキソプラズマ症は精神疾患、神経疾患、視神経に傷害を与えることが知られています。トキソプラズマの感染は世界中に広がっていますが、その中でもインドネシアのヒトにおける感染率は50%を超えています。インドネシアは大小さまざまな島から構成されており、今回はスラウェシ島北部のヒト、ブタ、ウシにおけるトキソプラズマ感染状況を調査しました。ヒト血清サンプル(856検体)の58.5%がトキソプラズマ陽性で、男性と女性間での陽性率に差は認められませんでした。0~9歳では感染率が10%以下でしたが、10歳以上から感染率が40%以上に増加していました。感染源として食肉に着目しブタとウシの感染率を調査したところ、それぞれ2.3%と14.9%でした。以上の結果は、スラウェシ島北部のヒトにはトキソプラズマ感染が蔓延しており、本地域の感染要因を特定する必要があることを示しています。本研究結果は、インドネシア・サムラランギ大学との共同研究の成果です。(論文リスト6)
- ・ 病原性原虫トキソプラズマのワクチンを開発するためには、免疫活性化能をもつワクチン抗原を使用することが有効であると考えられます。本研究では、トキソプラズマのペルオキシレドシン1 (TgPrx1) が免疫活性化能と防御免疫効果を持つことを見出しました。TgPrx1 を免疫細胞マクロファージ作用させたところ、免疫活性化に重要な NF- κ B シグナルを活性化し、炎

症性サイトカインの産生を誘導しました。この結果は、TgPrx1 が免疫活性化を誘導するアジユバント効果を持つことを示しています。TgPrx1 をマウスに免疫すると、抗原特異的な抗体産生とリンパ球の活性化が認められました。さらに、TgPrx1 を免疫したマウスはトキソプラズマの感染に対し抵抗性を示し、原虫の脳内感染を減少させマウスの生存率が増加しました。以上より、TgPrx1 のような免疫活性化能をもつ抗原はワクチン開発に有効であることが示されました。（論文リスト7）

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議委員
- ・ 日本獣医寄生虫学会評議委員
- ・ 日本寄生虫学会評議委員
- ・ 日本獣医寄生虫学会常任理事・渉外・広報担当理事

② 主催した学会、研究会等

- ・ 第25回分子寄生虫学ワークショップ（平成29年8月27日～8月30日、帯広畜産大学原虫病研究センター）

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 分子寄生虫学ワークショップ世話人
- ・ 日本獣医寄生虫学会誌編集委員
- ・ 日本獣医学会寄生虫分科会、会計監査
- ・ The Journal of Protozoology Research 編集委員長

6. 平成29年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Karin Uesaka, Kenji Koyama, Noriyuki Horiuchi, Yoshiyasu Kobayashi, Yoshifumi Nishikawa, Hisashi Inokuma. A clinical case of neosporosis in a 4-week-old holstein friesian calf which developed hindlimb paresis postnatally. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 2018; 80: 280-283. PMID: 29237996
2. Uesaka K, Hisashi Inokuma, Noriyuki Horiuchi, Yoshiyasu Kobayashi, Hidefumi Furuoka, Yoshifumi Nishikawa. Detection of anti-*Neospora caninum* antibody in serum and cerebrospinal fluid from a calf with neosporosis. **Japanese journal of veterinary parasitology**. 2017; 16:18-21.
3. Kousuke Umeda, Sachi Tanaka, Fumiaki Ihara, Junya Yamagishi, Yutaka Suzuki, Yoshifumi Nishikawa*. Transcriptional profiling of Toll-like receptor 2-deficient primary murine brain cells during *Toxoplasma gondii* infection. **PLoS One**. 2017; 12: e0187703. PMID: 29136637

4. Ahmed Abdelmoniem Mousa, Daniel Barry Roche, Mohamad Alaa Terkawi, Kyohko Kameyama, Ketsarin Kamyngkird, Patrick Vudriko, Akram Salama, Shinuo Cao, Sahar Orabi, Hanem Khalifa, Mohamed Ahmed, Mabrouk Attia, Ahmed Elkirdasy, **Yoshifumi Nishikawa**, Xuenan Xuan, Emmanuel Cornillot. Human babesiosis: Indication of a molecular mimicry between thrombospondin domains from a novel *Babesia microti* BmP53 protein and host platelets molecules. **PLoS One**. 2017; 12: e0185372. PMID: 29040286
5. Maki Nishimura, Kousuke Umeda, Masayuki Suwa, Hidefumi Furuoka and **Yoshifumi Nishikawa***. CCR5 is Involved in Interruption of Pregnancy in Mice Infected with *Toxoplasma gondii* During Early Pregnancy. **Infection and Immunity**. 2017; 85: pii: e00257-17. PMID: 28630065
6. Josef Tuda, Sri Adiani, Madoka Ichikawa-Seki, Kousuke Umeda, **Yoshifumi Nishikawa***. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in humans and pigs in North Sulawesi, Indonesia. **Parasitology International**. 2017; 66: 615-618. PMID: 28465107
7. Ragab M. Fereig, Yasuhiro Kuroda, Mohamad Alaa Terkawi, Motamed Elsayed Mahmoud, **Yoshifumi Nishikawa***. Immunization with *Toxoplasma gondii* Peroxiredoxin 1 Induces Protective Immunity against Toxoplasmosis in Mice. **PLoS One**. 2017; 12: e0176324. PMID: 28448521
8. Azirwan Guswanto, Puttik Allamanda, Euis Siti Mariamah, Tserendorf Munkjargal, Bumduuren Tuvshintulga, Hitoshi Takemae, Thillaiampalam Sivakumar, Mahmoud AbouLaila, Mohamad Alaa Terkawi, Madoka Ichikawa-Seki, **Yoshifumi Nishikawa**, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi. Evaluation of immunochromatographic test (ICT) strips for the serological detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Western Java, Indonesia. **Veterinary Parasitology**. 2017; 239: 76-79. PMID: 28413078
9. Ketsarin Kamyngkird, Shinuo Cao, Bumduuren Tuvshintulga, Akram Salama, Ahmed Abdelmoniem Mousa, Artemis Efstratiou, **Yoshifumi Nishikawa**, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan. Effects of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors on the growth of *Theileria equi* and *Babesia caballi* *in vitro*. **Experimental Parasitology**. 2017; 176: 59-65. PMID: 28286324

総説（*責任著者）

1. **Yoshifumi Nishikawa***, Towards a Preventive Strategy for Neosporosis: Challenges and Future Perspectives for Vaccine Development Against Infection with *Neospora caninum*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 79: 1374-1380. PMID: 28690279
2. 猪原史成、**西川義文***：トキソプラズマ感染によるヒトの精神疾患とげっ歯類の行動変化、**獣医寄生虫学会誌 (Jpn. J. Vet. Parasitol.)**、2016、15(2)、90-99

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

1. ホストを操る寄生虫:トキソプラズマ (Host manipulation by parasite, *Toxoplasma gondii*)、分子生物・生化学会合同大会 ConBio2017、2017年12月6日
2. Introduction of National Research Center on Protozoan Diseases, Obihiro University, Japan、Weill Cornell Medical College (アメリカ)、2017年11月14日
3. Introduction of National Research Center on Protozoan Diseases, Obihiro University, Japan、Animal Health Diagnostic Center (AHDC), Cornell University, College of Veterinary Medicine (アメリカ)、2017年11月13日
4. Development of screening system for anti-toxoplasmosis agents、The 1st International Symposium on Natural Resources-based Drug Development (インドネシア)、2017年8月21日
5. Toxoplasmosis: A Neglected Zoonoses、Airlangga University (インドネシア)、2017年8月18日

9. 獲得研究費

1. 平成 29 年度 地域産学バリュープログラム (科学技術振興機構)、ネオスポラ感染に対する社会実装可能な診断方法の開発、代表、平成 29 年度～平成 30 年度
2. 平成 29 年度 挑戦的研究 (萌芽) (文部科学省)、脳内寄生虫トキソプラズマの感染による記憶改変メカニズムの解明 (17K19538)、代表、平成 29 年度～平成 30 年度
3. 伊藤記念財団平成 29 年度研究助成、食肉家畜における原虫感染症の血清診断法の開発と血清疫学的研究、代表、平成 29 年度
4. 平成 29 年度 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業、トキソプラズマ症の総合的対策に向けた開発研究、分担、平成 29 年度～平成 31 年度
5. 平成 28 年度 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業、日本におけるトキソプラズマの分子疫学調査と新規診断法の開発、分担、平成 28 年度～平成 30 年度
6. 平成 27 年度 基盤研究 (B) (一般) (文部科学省)、ネオスポラ病原性因子の同定とワクチン開発への応用 (15H04589)、代表、平成 27 年度～平成 29 年度

10. 特許申請・取得

1. 西川義文、二瓶浩一、飯島正富、一色邦夫、大庭俊一、土井宏育、木村智之、波多野和樹、村松秀行、五十嵐雅之、山崎勝久：抗アピコンプレクサ類原虫剤、アピコンプレクサ類原虫感染

症に対する予防又は治療用医薬組成物、及び流産又は死産防止剤、特願 2017-243872

2. 西川義文、ラガブ マツハルーフ マハムッド フェレイク：アジュバント、特願 2017-252032

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. Hadi Kuncoro: Mulawarman University, Screening of Anti-*Toxoplasma* Agent From East Borneo Natural Resource 2018年2月5日～、共同研究契約
2. 二瓶 浩一：（公財）微生物化学研究会・微生物化学研究所、抗原虫薬開発に適した化合物ライブラリーと評価システムの構築、2017年4月1日～2018年3月31日、平成29年度原虫病研究センター共同研究
3. ATTY. LIZA D. CORRO: UNIVERSITY OF THE PHILIPPINES CEBU、MEMORANDUM OF AGREEMENT BETWEEN UNIVERSITY OF THE PHILIPPINES CEBU AND OBIHIRO UNIVERSITY、2016年3月～2020年3月、学術協定
4. Ellen Joan Kumaat: SAM RATULANGI UNIVERSITY、Memorandum of Understanding BETWEEN SAM RATULANGI UNIVERSITY and OBIHIRO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE、2015年10月～2019年10月、学術協定
5. Charles L Kaunang: Animal Sciences Faculty, Sam Ratulangi University、RESEARCH AND ACADEMIC COLLABORATION BETWEEN ANIMAL SCIENCES FACULTY, SAM RATULANGI UNIVERSITY, INDONESIA AND NATIONAL RESEARCH CENTER FOR PROTOZOAN DISEASES, OBIHIRO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE, JAPAN、2015年2月～2019年2月、学術協定
6. 高橋 良和：（公財）微生物化学研究会・微生物化学研究所、病原性原虫に対する薬剤候補化合物および新規治療標的の探索、2016年4月1日～2018年3月31日、共同研究契約

1. 研究テーマの概要

発生工学的応用による原虫感染機構の解明

発生工学とは、バイオテクノロジーの一分野で、動物の発生過程を人工的に制御して新しい動物を作り出すことを目指すものです。医学・薬学あるいは獣医学領域におけるこの発生工学の魅力は、興味ある遺伝子の機能を動物の個体レベルで解析可能にすることにあります。例えば、培養細胞を用いて血圧の制御にかかわる遺伝子の機能を観察することは不可能ですが、発生工学は生体の高次機構の中で遺伝子機能を直接的に解析可能な検定系を提供できますので、その解析結果の臨床研究への応用展開も容易にさせるといえます。これまでに発生工学から生み出されたたくさんの遺伝子改変マウスが、生活習慣病、癌あるいは感染症などの理解のために活用されています。これには、原虫関連疾患も例外ではありません。当研究分野では、宿主の生理機能を修飾することによる原虫感染症の予防・治療の可能性を探索しています。

これまでのビタミン E 転送タンパク欠損マウスを用いた解析から、宿主のビタミン E 欠乏が原虫感染症に効果的に働くことがわかってきました。循環中のビタミン E 濃度を規定するビタミン転送タンパクの機能不全は、脂溶性の抗酸化物質であるビタミン E 欠乏を招きますが、宿主の循環中のビタミン E 欠乏は、寄生マラリア原虫の DNA 障害を惹起し増殖を抑制させる効果が認められました。この効果は、マラリア原虫のみならずトリパノソーマ原虫感染においても観察されたことから、広く宿主の循環中に寄生する原虫の増殖抑制に働くことが期待されます。この効果を発揮する化合物を探したところ、最近になって、すでに上市されている高脂血症薬プロブコールが循環中のビタミン E レベルの抑制、抗原虫効果を発揮することを発見しました。さらに、プロブコールと既存の抗マラリア薬である DHA (dihydroartemisinin)の併用効果が顕著であったことから、プロブコールの利用は薬剤耐性原虫の出現抑制にも寄与することが期待されます。現在、臨床応用へ向けての研究を進めています。

これらに加えて、マラリア感染が雌雄の生殖能力に及ぼす影響についても研究しています。妊娠時にマラリアに感染すると、非妊娠時に感染した場合と比べて、症状が重篤になることが知られています。そこで、マウスモデルを使って、妊娠のどの時期に感染が成立すると重篤化が進むのか？その理由は？を検討しています。併せて、マラリア感染と雄の精子形成能力、妊孕能との関係についても研究課題としています。

また、本年度は、「日本学術振興会論文博士号取得支援希望者に対する支援事業」の支援を受け、ウガンダ・マケレレ大学・アシスタント講師の Patrick VUDRIKO 氏の博士号取得の対象となる研究の実験・論文発表を行うとともに、学位申請とその取得を果たしました。

発生・生殖工学の技術開発研究

バイオサイエンスの解析系を充実するためには、発生工学とそれを支える体外受精、胚移植、配偶子の凍結保存、凍結乾燥保存などの生殖工学の技術開発が不可欠です。当研究分野では、マウスを対象とした発生・生殖工学技術の深耕を図るとともに、この一連の技術は盲導犬をはじめ

とする補助犬の育成にも応用して、社会貢献を果たしています。我々は、世界で初めて凍結受精卵由来のイヌ産仔を得ることに成功しており、今後、盲導犬の普及への貢献が期待されています。

2. 主な研究テーマ

- ・ ビタミン E 欠乏誘導による抗原虫効果の検討
- ・ 妊娠を伴うマラリアの病態メカニズムの解析
- ・ マラリア感染が雄の生殖能力に及ぼす影響の解析
- ・ イヌの生殖工学技術の開発、特に精子、胚、卵巣の凍結保存技術の開発
- ・ バベシア受容体欠損ウシの樹立

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ アフリカ諸国においては、マダニ媒介性感染症が家畜生産に甚大な被害をもたらしており、この大きな要因のひとつに不適切な殺ダニ剤の使用が考えられていますが、その実態についての調査は乏しいものでした。そこで、ウガンダ各地の農場におけるマダニ対策の実態調査を実施し、採取したマダニに薬剤抵抗性が存在すること、およびその抵抗性遺伝子を明らかにするとともに、RFLP 法による殺ダニ剤抵抗性迅速診断法を開発しました（論文リスト 1）。これらの成績からウガンダ各地の農場においては殺ダニ剤抵抗性マダニに対する適切な対策法の実施が必要であると考えられたため、短期・中期的な介入プログラムを考案しました。すなわち、政府関係者、医薬品販売業者、大学等の研究機関、獣医師、畜産関係者間における情報共有不足が、不適切なマダニ対策の実施に繋がっていると推測されたため、各畜産農家に対する採取したマダニの薬剤感受性判定結果の提供に加え、適切な殺ダニ剤の選択と計画的な使用法の提案を行うとともに、各関係者に向けてセミナーを開催し、ウガンダにおける殺ダニ剤抵抗性マダニ対策法確立の緊急性と重要性について啓蒙活動を実施しました。これらステークホルダーからのフィードバックを集計した結果、殺ダニ剤抵抗性マダニ対策法の確立には本プログラムの推進が非常に有益であると考えられました（論文リスト 5）。殺ダニ剤の不適切な供給と使用、畜産関係者の知識不足が、誤ったマダニ対策法実施の主要因であることが明らかになりました。
- ・ マラリアは、蚊が宿主動物を吸血することでマラリア原虫が感染する赤血球寄生性原虫感染症で、その患者は重度の貧血、脳マラリアや多臓器不全などの重篤な症状を呈することが知られていますが、いまだに十分な予防・治療法はなく、新たな予防・治療法の開発が必要とされている疾患です。最近、ビタミン E の誘導体であるコハク酸トコフェロールが酸化作用を有することが報告され、がん研究の分野で注目を集めています。感染症、特に原虫感染に着目した研究はなされていませんでした。そこで、コハク酸トコフェロールの効果を酸化的負荷に対する感受性の高いマラリア原虫を用いて検証したところ、*P. yoelii* 17XL と *P. berghei* ANKA 感染のどちらにおいても、コハク酸トコフェロールの有意なマウス生存期間の延長とパラシテミアの低下を認めました。現在、エーザイとの共同研究で、より抗マラリア作用の強いビタミン E 誘導体の開発を継続しています。

- ・ これまで盲導犬をはじめとする身体障害者補助犬の効率的育成を果たす目的の一環として、人工授精法の改良を試みてきました。そのひとつとして卵黄に代わる耐凍剤としてスキムミルクを用いた凍結保存液を開発してきましたが、今年度は長期間にわたる繁殖成績を整理して実効性、実用性を検討した結果、スキムミルクを用いた凍結保存液は、卵黄を用いたものと遜色なく、イヌ精子の人工授精に充分利用可能であることが明らかとなりました（論文リスト3）。これによって、凍結精液作製の省力化が図られます。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本卵子学会常任理事
- ・ 日本熱帯医学会評議員
- ・ 日本繁殖生物学会評議員
- ・ 日本寄生虫学会評議員
- ・ 日本実験動物学会
- ・ 日本獣医学会
- ・ 日本生殖医学会
- ・ 日本分子生物学会
- ・ 日本ゲノム編集学会
- ・ 日本身体障害者補助犬学会
- ・ Society for the Study of Reproduction (米国・正会員)

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 日本卵子学会 生殖補助医療胚培養士資格認定委員
- ・ 日本学術振興会 特別研究員等審査会専門委員

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, James Okwee-Acai, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Kozo Fujisaki, Xuenan Xuan, **Hiroshi Suzuki***. Genetic mutations in sodium channel domain II and carboxylesterase gened associated with phenotypic resistance against synthetic pyrethroids by *Rhipicephalus(Boophilus) decoloratus* ticks in Uganda. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 2017; 143:181-190.PMID: 29183590

2. Aaron Edmond Ringo, Paul Franck Adjou Moumouni, Moeti Taioe, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Guanbo Wang, Yang Gao, Huanping Guo, Seung-Hun Lee, Weiqing Zheng, Artemis Efstratiou, Jixu Li, Noboru Inoue, **Hiroshi Suzuki**, Oriel Thekisoe, Xuenan Xuan*. Molecular analysis of tick-borne protozoan and rickettsial pathogens in small ruminants from two South African provinces. **Parasitology International**. 2018; 67:144-149. PMID: 29155280
3. Yasuyuki Abe, Sakimi Yokozawa, Rika Umemiya-Shirafuji, Paul Franck Adjou Moumouni, Y Suwa, **Hiroshi Suzuki***. Fertilizing ability of canine spermatozoa cryopreserved with skim milk-based extender in a retrospective study. **Reproduction in Domestic Animals**. 2018; 53:237-242. PMID: 29110350
4. Rika Umemiya-Shirafuji, Takeshi Hatta, Kazuhiro Okubo, Moeko Sato, Hiroki Maeda, Aiko Kume, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi, Naotoshi Tsuji, Kozo Fujisaki, Noboru Inoue, **Hiroshi Suzuki***. Transovarial persistence of *Babesia ovata* DNA in a hard tick, *Haemaphysalis longicornis*, in a semi-artificial mouse skin membrane feeding system. **Acta Parasitologica**. 62, 836-841. 2017; 62:836-841. PMID: 29035855
5. Patrick Vudriko, James Okwee-Acai, Joseph Byaruhanga, Dickson Stuart Tayebwa, Robert Omara, Jeanne Bukeka Muhindo, Charles Lagu, Rika Umemiya-Shirafuji, Xuenan Xuan, **Hiroshi Suzuki***. Evidence-based tick acaricide resistance intervention strategy in Uganda: Concept and feedback of farmers and stakeholders. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9: 254-265. PMID: 28978456
6. Takuya Hori, Noboru Inoue, **Hiroshi Suzuki**, Shinji Harakawa. Configuration-dependent variability of the effect of an electric field on the plasma glucocorticoid level in immobilized mice. **Bioelectromagnetics**. 2017; 38: 265-271. PMID: 28236325
7. Shinji Harakawa, Takuya Hori, Noboru Inoue, **Hiroshi Suzuki***. Time-dependent changes in the suppressive effect of electric field exposure on immobilization-induced plasma glucocorticoid increase in mice. **Bioelectromagnetics**. 2017; 38:272-279. PMID: 28130781
8. Charoonluk Jirapattharasate, Paul Franck Adjou Moumouni, Shinuo Cao, Aiko Iguchi, Mingming Liu, Guanbo Wang, Mo Zhou, Patrick Vudriko, Artemis Efstratiou, Tanasak Changbunjong, Sivapong Sungpradit, Parntep Ratanakorn, Walasinee Moonarmart, Poonyapat Sedwisai, Thekhawet Weluwanarak, Witsanu Wongsawang, **Hiroshi Suzuki**, Xuenan Xuan. Molecular detection and genetic diversity of bovine *Babesia* spp., *Theileria orientalis*, and *Anaplasma marginale* in beef cattle in Thailand. **Parasitology Research**. 2017; 116:751-762. PMID: 28028631
9. Mo Zhou, Shinuo Cao, Ferda Sevinc, Mutlu Sevinc, Onur Ceylan, Sepil Ekici, Charoonluk Jirapattharasate, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Guanbo Wang, Aiko Iguchi, Patrick Vudriko, **Hiroshi Suzuki**, Xuenan Xuan. Molecular detection and genetic characterization of *Babesia*, *Theileria* and *Anaplasma* amongst apparently

- healthy sheep and goats in the central region of Turkey. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2017; 8:246-252. PMID: 27908771
10. Guanbo Wang, Artemis Efstratiou, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Charoonluk Jirapattharasate, Huanping Guo, Yang Gao, Shinuo Cao, Mo zhou, **Hiroshi Suzuki**, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan. Expression of truncated *Babesia microti* apical membrane protein 1 and rhoptry neck protein 2 and evaluation of their protective efficacy. **Experimental Parasitology**. 2017; 172:5-11. PMID: 27876473
11. Moeko Sato, Takeshi Hatta, Hiroki Maeda, Daigo Tsubokawa, M Abdul Alim, Naotoshi Tsuji, Noboru Inoue, **Hiroshi Suzuki**, Rika Umemiya-Shirafuji. Application of Percoll density gradient centrifugation for separation of *Babesia ovata* infected erythrocytes. **Journal of Protozoology Research**. 2017; 27: 8-12.

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

1. 平成 26 年度 基盤研究 (B) (海外学術調査) (文部科学省)、アフリカ大陸におけるマダニ媒介性動物原虫感染症の流行実態の解明と予防対策の確立 (26304036)
2. 共同研究 エーザイ株式会社、トコフェロール誘導体の抗原虫効果について
3. 平成 29 年度 論文博士取得希望者に対する支援事業 日本学術振興会
4. 平成 29 年度 二国間交流事業共同研究 (中国) 日本学術振興会

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. エーザイ株式会社：トコフェロール誘導体の抗原虫効果について、共同研究

1. 研究テーマの概要

マダニは原虫、リケッチア、ウイルスといった様々な病原体を家畜や人に媒介する吸血性節足動物です。マダニは、卵、幼ダニ、若ダニ、成ダニ（雌・雄）と発育し、1世代を終えるまでに数か月～数年を要します。吸血行動は幼・若・成ダニ期に1回ずつ、計3回行われるだけであり、マダニは生活史の大半を未吸血・飢餓状態で過ごします。その一方で、成ダニ（雌）が吸血を終えて満腹状態（飽血）に達すると、その体重は吸血前の約100倍も増加し、獲得した栄養分のほとんどすべてを数千個におよぶ卵の発育に利用します。当研究室では、マダニの「栄養代謝（飢餓と飽血）」および「卵形成」に着目し、それらの分子機構に関する研究を推進しています。また、マダニ体内における媒介原虫の動態やマダニの栄養代謝関連分子・卵形成必須分子が原虫伝播に果たす役割、マダニ自身が保有する共生細菌の存在意義についての解析を進めています。多角的な視点でマダニという生物を理解し、新規のマダニ対策法開発に繋げることを目指しています。

また、本年度よりスタートした「共同利用・共同研究拠点事業 マダニバイオバンク整備とベクターバイオロジーの新展開」の一環として、マダニの鑑別・繁殖・供給システムから遺伝子情報までを網羅した日本初のマダニバイオバンク整備を進めています。

2. 主な研究テーマ

- ・ マダニの飢餓耐性メカニズムの解明
- ・ マダニの栄養代謝に関与する分子機構の解明
- ・ マダニにおける原虫の伝播機構の解明
- ・ マダニにおける共生細菌の存在意義の解明

3. 平成29年度研究の総括

- ・ マダニの卵母細胞発育は吸血後に誘導され、その発育は非同期的であることが知られています。フタトゲチマダニ（単為生殖系）雌ダニにおける卵母細胞の発育過程についての詳細な観察はこれまで行われていないことから、我々は、卵母細胞の発育ステージ分類基準を新たに設定することを試みました。雌ダニの未吸血から産卵期における卵巣を組織学的に観察し、卵母細胞の細胞質の特徴により、発育ステージをI～Vに分類しました。確立した分類基準に基づき、未吸血および緩慢吸血期の雌ダニ卵巣ではステージIが、急速吸血期ではステージIおよびIIの卵母細胞が存在することが明らかになりました。さらに、飽血後4日目以降では、ステージI～Vの卵母細胞が観察されました。これらの知見は、マダニの卵形成および病原体の介卵伝播を理解する上での重要な基礎情報となります。（論文リスト1）
- ・ *in vitro* 培養バベシア *Babesia ovata* 感染牛赤血球の中には、分裂期にある虫体以外に *crysis form* と呼ばれる異常形態の虫体が発見することがあります。バベシア感染マダニの作出にお

いては、異常形態の虫体を可能な限り排除し、より多くの分裂期虫体を吸血に供することが重要となることから、パーコール密度勾配遠心法を用いた *B. ovata* 感染牛赤血球の調整法の確立を試みました。その結果、パーコール密度勾配遠心法により、分裂期虫体感染赤血球を高比重層に、crisis form 感染赤血球を低比重層に分離することに成功しました。さらに、高比重層を回収し、新鮮牛赤血球およびメディウムとともに培養を行ったところ、虫体の増殖が認められ、本法が虫体の生存および増殖に影響しないことが判明しました。以上のことから、本法は、人工吸血法のような *B. ovata* 分裂期虫体を必要とする実験系に極めて有用であると考えられました。（論文リスト 7）

- ・ バベシア *Babesia ovata* (*in vitro* 培養株) を感染させた牛赤血球をフタトゲチマダニ（単為生殖系）雌ダニに吸血させ、実験室内でバベシア感染フタトゲチマダニを作出しました。その産下卵を経日的に回収し、nested PCR により *B. ovata* 遺伝子の検出を試みました。その結果、産卵開始後 1～3 日目の産下卵において *B. ovata* 遺伝子の増幅が認められました。このことから、*B. ovata* に感染した卵は、約 3 週間という長い産卵期間のうち、より早い時期において産下されることが示唆されました。（論文リスト 5）

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会
- ・ 日本獣医寄生虫学会 評議員、渉外・広報委員（兼 国際交流委員）
- ・ 日本寄生虫学会
- ・ 日本衛生動物学会
- ・ 日本ダニ学会 文献目録委員

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Ryo Mihara, Rika Umemiya-Shirafuji, Yasuyuki Abe, Tomohide Matsuo, Noriyuki Horiuchi, Suguru Kawano, Kozo Fujisaki, Hiroshi Suzuki. The development of oocytes in the ovary of a parthenogenetic tick, *Haemaphysalis longicornis*. **Parasitology International**. 2018; 67(4): 465–471. PMID: 29678671
2. Paul Franck Adjou Moumouni, Gilbert Luc Aplogan, Hirotaka Katahira, Yang Gao,

- Huanping Guo, Artemis Efstratiou, Charoonluk Jirapattharasate, Guanbo Wang, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan. Prevalence, risk factors, and genetic diversity of veterinary important tick-borne pathogens in cattle from *Rhipicephalus microplus*-invaded and non-invaded areas of Benin. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9(3): 450-464. PMID: 29307783
3. Patrick Vudriko, **Rika Umemiya-Shirafuji**, James Okwee-Acai, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Kozo Fujisaki, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki. Genetic mutations in sodium channel domain II and carboxylesterase genes associated with phenotypic resistance against synthetic pyrethroids by *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks in Uganda. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 2017; 143: 181-190. PMID: 29183590
 4. Yasuyuki Abe, Sakimi Yokozawa, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Paul Franck Adjou Moumouni, Y Suwa, Hiroshi Suzuki. Fertilizing ability of canine spermatozoa cryopreserved with skim milk-based extender in a retrospective study. **Reproduction in Domestic Animals**. 2018; 53(1): 237-242. PMID: 29110350
 5. **Rika Umemiya-Shirafuji***, Takeshi Hatta, Kazuhiro Okubo, Moeko Sato, Hiroki Maeda, Aiko Kume, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi, Naotoshi Tsuji, Kozo Fujisaki, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki. Transovarial persistence of *Babesia ovata* DNA in a hard tick, *Haemaphysalis longicornis*, in a semi-artificial mouse skin membrane feeding system. **Acta Parasitologica**. 2017; 62(4): 836-841. PMID: 29035855
 6. Patrick Vudriko, James Okwee-Acai, Joseph Byaruhanga, Dickson Stuart Tayebwa, Robert Omara, Jeanne Bukeka Muhindo, Charles Lagu, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki. Evidence-based tick acaricide resistance intervention strategy in Uganda: Concept and feedback of farmers and stakeholders. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9(2): 254-265. PMID: 28978456
 7. Moeko Sato, Takeshi Hatta, Hiroki Maeda, Daigo Tsubokawa, M Abdul Alim, Naotoshi Tsuji, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki, **Rika Umemiya-Shirafuji***. Application of Percoll density gradient centrifugation for separation of *Babesia ovata*-infected erythrocytes. **Journal of Protozoology Research**. 2017; 27(1-2): 8-12.

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 第 62 回ヒューマンネット十勝 in 畜大、「原虫病研究センターにおけるマダニ研究の紹介」、帯広畜産大学総合研究棟 1 号館、2017 年 7 月 6 日
2. 原虫病研究センター施設見学および寄生虫の標本展示、平成 29 年度帯広畜産大学オープンキャンパス、帯広畜産大学・原虫病研究センターPK ホール、2017 年 7 月 29 日
3. 寄生虫観察の体験実習、第 7 回畜大ふれあいフェスティバル、北海道帯広市とかちプラザ、2017 年 12 月 9 日

8. 招待講演等

1. 第 160 回日本獣医学会学術集会・公衆衛生学分科会シンポジウム、「マダニ生物学から見た原虫伝播メカニズムの理解」、鹿児島大学郡元キャンパス、2017 年 9 月 13 日

9. 獲得研究費

1. 平成 29 年度 基盤研究 (B) (海外学術調査) (文部科学省)、アフリカ大陸におけるマダニ媒介性動物原虫感染症の流行実態の解明と予防対策の確立 (26304036)、分担、平成 26 年度～平成 29 年度
2. 平成 29 年度 若手研究 (B) (文部科学省)、栄養代謝に着目したマダニ-原虫間の相互作用の解明 (16K18794)、代表、平成 28 年度～平成 30 年度
3. 平成 29 年度 基盤研究 (B) (海外学術調査) (文部科学省)、ケニアとウガンダにおける殺ダニ剤抵抗性マダニの分布調査と迅速検査法の開発 (17H04641)、分担、平成 29 年度～平成 31 年度
4. 平成 29 年度 基盤研究 (B) (一般) (文部科学省)、マダニ吸血プロセスにおけるロンギスタチンの分泌意義と疾患制御への応用 (17H03919)、分担、平成 29 年度～平成 31 年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

1. 十勝毎日新聞 (2017 年 7 月 8 日 2 面)、異業種交流会「ヒューマンネット十勝」でマダニの研究紹介についての記事掲載
2. 十勝毎日新聞 (2018 年 1 月 11 日 25 面)、「共同利用・共同研究拠点事業 マダニバイオバンク整備とベクターバイオロジーの新展開 (平成 29 年度～平成 33 年度)」において作成したリーフレット「とかちマダニじてん」についての記事掲載

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. 中尾 亮：北海道大学大学院獣医学研究院、マダニから分離した Spiroplasma 属共生菌の微生物学的特性解析、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究
2. 田仲 哲也：鹿児島大学共同獣医学部、Scale 法を用いたマダニ組織の透明化技術の確立と過酸化水素の可視化、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究
3. Haiyan Gong：Chinese Academy Of Agricultural Sciences、RNA interference of Serpins in Soft tick Ornithodoros moubata to reveal the molecules associated with serpins function、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究

1. 研究テーマの概要

ピロプラズマ病は、バベシアおよびタイレリアがマダニによって媒介され、動物（牛、馬、犬、ネズミなど）の赤血球に寄生し、発熱、貧血、血色素尿症を引き起こす難治性の原虫病である。ピロプラズマ病は世界的に分布し、その経済的被害は毎年約数千億円に上り、獣医学領域で最も重要な感染症のひとつである。しかし、ピロプラズマ病を完全に治療・予防可能な薬剤やワクチンは未だ開発されていない。現在使用されている抗ピロプラズマ薬は副作用が強く安全性に大きな課題を抱えている。また、治療を受けた動物でも再発することが多い。そのため、原虫を殺滅する効果と安全性が高い薬剤の開発が喫緊の課題である。さらに、牛バベシア病や馬ピロプラズマ病は家畜法定伝染病に指定されており、最新の診断法の導入による検疫体制の強化を図り、これらのピロプラズマ病が日本へ侵入する事を阻止する事が急務である。我々の研究グループは、4種類の家畜のピロプラズマ原虫の培養系を日本で初めて確立し、これらを使って血清診断法、遺伝子診断法の開発に取り組み、2008年に世界で初めて牛バベシア病と馬ピロプラズマ病の国際獣疫事務局（OIE）のレファレンスラボラトリーに認定されている。また、多数の薬剤候補による増殖効果を短期間で測定可能な *in vitro* ハイスループットスクリーニング法の開発に成功し、新たな薬剤治療の開発に取り組んでいる。さらに、ピロプラズマ原虫の赤血球侵入、分裂・増殖等の分子機構の解明に関する研究も進めている。

2. 主な研究テーマ

- ・ ピロプラズマ病に対する血清並びに遺伝子診断法の開発と国際的な評価
- ・ ピロプラズマ病に対する新規の薬剤スクリーニングと治療法の確立
- ・ ピロプラズマの赤血球への寄生、分裂・増殖の分子機構の解明

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ 牛バベシア *Babesia bovis* と *Babesia bigemina* の組換え抗原 SBP-4 と rRAP1/CT17 を用いて、迅速・簡便な血清診断法であるイムノクロマト法の単独および複合ストリップを作製し、間接ELISAと比較検討した。その結果、*B. bovis* と *B. bigemina* とも間接ELISA、単独イムノクロマト法、複合イムノクロマト法の順で陽性率が若干減少したが、3法は高い一致率を示した。以上の結果より、イムノクロマト法は迅速性が求められる流行地での疫学調査に有効な血清診断法である事が示唆された。（論文リスト11）
- ・ N-acetyl-L-cysteineの *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia divergens*, *Theileria equi* に対する増殖抑制効果を検討した。その結果、N-acetyl-L-cysteineはマイクロモルオーダーの低濃度で原虫の増殖を抑制した。特にdiminazene aceturateと併用した場合、*B. bovis* と *B. caballii* に対してより高い抑制効果を示し、今後の更なる検討により新規薬剤となる可能性が高い。（論文リスト10）

- ・ 牛バベシア *Babesia divergens* に対するワクチン候補の開発のため、赤血球結合たんぱく質 (BdEBP) に対する抗血清を作製し、赤血球の侵入に対する効果を検討した。その結果、BdEBP に対する抗血清は *B. divergens* の赤血球への侵入を阻止する事が示され、BdEBP はワクチン候補となりうる可能性を示した。(論文リスト8)
- ・ クロファジミン(CF) は培養バベシアの増殖を抑制し、マウスバベシア実験系でもその治療効果が示された。しかしながら、CFは感染マウスのバベシアを用いた治療では、完全に殺滅する事が出来ない事も明らかになっている。そこで本研究では、治療効果が高いが副作用も強く現在最も良く使用されているジミナゼン・アセチューレート (DA) とCF を併用し、効果が高く副作用の少ない治療法について検討した。その結果、併用療法は単独治療法よりも効果が高く、CF は mRNA とDNA濃度を抑制し、DAはDNA 量のみを抑制する事が示唆された。以上より、DA・CF併用治療法はこれまでよりも効果の高い治療法となる事が期待される。(論文リスト4)
- ・ マウスバベシア実験による新規薬剤の治療効果を迅速により簡単な評価法について、SYBR Green I (SG I)を用いて検討した。その結果、2.5% HCT で SG I を2倍希釈で用いると最適の評価が得られ、顕微鏡により血液塗抹標本を用いて算出する方法と高い相関が得られた。(論文リスト5)
- ・ *B. bovis* SBP-4および *B. bigemina* RAP-1a 組換え抗原を用いたenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)および immunochromatographic test (ICT), 更に各遺伝子を標的とした nested PCR (nPCR) を、インドネシアで採取した牛の487 例の血液サンプルを用いて評価した。その結果、*B. bovis* では ELISA, 単一-ICT, 複数-ICT と nPCR で340 (69.8%), 317 (65.1%), 307 (63.0%) 247例 (50.7%)が陽性反応を示した。一方、*B. bigemina*では134 (27.5%), 130 (26.7%), 127 (26.1%) and 93 例(19.1%)がそれぞれ陽性反応を示した。また、125 (25.7%), 113 (23.2%), 109 (22.4%) 52 例(10.7%) が混合感染であった。更にnPCR で陽性例を示した塩基配列は各国で得られた分離株の塩基配列を高い相関率を示した。(論文リスト3)
- ・ 熱ショック蛋白質90阻害剤 (17-DMAG) のバベシアとタイレリアに対する増殖抑制効果を検討した。その結果、17-DMAG の *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens*, *B. caballi*, と *T. equi* に対するIC50 はそれぞれ 77.6 ± 2.9 , 62.4 ± 1.9 , 183.8 ± 3.2 , 88.5 ± 9.6 , and 307.7 ± 7.2 nMであった。また、ジミナゼン・アセチューレート (DA) と17-DMAGを併用すると、相乗ないし相加効果を示した。さらに、また、*B. microti*感染マウスに17-DMAG 30 mg/kgを投与すると、治療効果が認められ、現在人バベシア病の治療に用いられている薬剤との新しい併用治療法として期待される。(論文リスト1)

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本熱帯医学会理事
- ・ 日本獣医寄生虫学会評議員
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本寄生虫学会評議員
- ・ 世界寄生虫学者連盟・理事
- ・ Veterinary Parasitology・Editor-in-Chief

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 国際獣疫事務局（OIE）牛バベシア病、馬ピロプラズマ病専門家
- ・ 独立行政法人日本学術振興会 第3回「野口英世アフリカ賞」医学研究分野推薦委員会委員

6. 平成29年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Azirwan Guswanto, Arifin Budiman Nugraha, Bumduuren Tuvshintulga, Dickson Stuart Tayebwa, Mohamed Abdo Rizk, Gaber El-Saber Batiha, Sambuu Gantuya, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama, **Ikuo Igarashi***. 17-DMAG inhibits the multiplication of several *Babesia* species and *Theileria equi* on *in vitro* cultures, and *Babesia microti* in mice. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. 2018; 8: 104-111. PMID: 29499568
2. Thillaiampalam Sivakumar, Dinh Thi Bich Lan, Phung Thang Long, Le Quoc Viet, Gayani Weerasooriya, Aiko Kume, Keisuke Suganuma, **Ikuo Igarashi**, Naoaki Yokoyama. Serological and molecular surveys of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* among native cattle and cattle imported from Thailand in Hue, Vietnam. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 80: 333-336. PMID: 29249730
3. Azirwan Guswanto, Puttik Allamanda, Euis Siti Mariamah, Sodirun Sodirun, Putut Eko Wibowo, Liliek Indrayani, Rudi Harso Nugroho, I Ketut Wirata, Nur Jannah, Lepsi Putri Dias, Hadi Purnama Wirawan, Rochmadi Yanto, Bumduuren Tuvshintulga, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama and **Ikuo Igarashi***. Molecular and serological detection of bovine babesiosis in Indonesia. **Parasites & Vectors**. 2017; 10: 550. PMID: 29110723

4. Bumduuren Tuvshintulga, Mahmoud AbouLaila, Thillaiampalam Sivakumar, Dickson Stuart Tayebwa, Sambuu Gantuya, Khandsuren Naranbaatar, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Ōmura, Mohamad Alaa Terkawi, Azirwan Guswanto, Mohamed Abdo Rizk, Naoaki Yokoyama & **Ikuo Igarashi***. Chemotherapeutic efficacies of a clofazimine and diminazene aceturate combination against piroplasm parasites and their AT-rich DNA-binding activity on *Babesia bovis*. **Scientific Reports**. 2017; 7: 13888. PMID: 29066849
5. Mohamed Abdo Rizk, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Mahmoud AbouLaila, Rasha Eltaysh, Naoaki Yokoyama & **Ikuo Igarashi***. Performance and consistency of a fluorescence-based high-throughput screening assay for use in *Babesia* drug screening in mice. **Scientific Reports**. 2017; 7: 12774. PMID: 29038534
6. Rika Umemiya-Shirafuji, Takeshi Hatta, Kazuhiro Okubo, Moeko Sato, Hiroki Maeda, Aiko Kume, Naoaki Yokoyama, **Ikuo Igarashi**, Naotoshi Tsuji, Kozo Fujisaki, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki. Transovarial persistence of *Babesia ovata* DNA in a hard tick, *Haemaphysalis longicornis*, in a semi-artificial mouse skin membrane feeding system. **Acta Parasitologica**. 2017; 62: 836-841. PMID: 29035855
7. Duger Badral, Batsukh Odonbayar, Toshihiro Murata*, Tserendorj Munkhjargal, Bumduuren Tuvshintulga, **Ikuo Igarashi**, Keisuke Suganuma, Noboru Inoue, Adelheid H. Brantner, Gendaram Odontuya, Kenroh Sasaki, Javzan Batkhuu. Flavonoid and galloyl glycosides isolated from *Saxifraga spinulosa* and their antioxidative and inhibitory activities against species that cause piroplasmosis. **Journal of Natural Products**. 2017; 80: 2416-2423. PMID: 28832147
8. Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Mohamed Abdo Rizk, Mohamad Alaa Terkawi, Naoaki Yokoyama, **Ikuo Igarashi***. Molecular identification and antigenic characterization of *Babesia divergens* erythrocyte binding protein (BdEBP) as a potential vaccine candidate. **Parasitology International**. 2017; 66: 721-726. PMID: 28743470
9. Takahiro Ishizaki, Thillaiampalam Sivakumar, Kyoko Hayashida, Hitoshi Takemae, Bumduuren Tuvshintulga, Tserendorj Munkhjargal, Azirwan Guswanto, **Ikuo Igarashi**, Naoaki Yokoyama*. *Babesia bovis* BOV57, a *Theileria parva* P67 homolog, is an invasion-related, neutralization-sensitive antigen. **Infection, Genetics and Evolution**. 2017; 54:138-145. PMID: 28668608
10. Mohamed Abdo Rizk, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Mahmoud AbouLaila, Naoaki Yokoyama, **Ikuo Igarashi***. Evaluation of the inhibitory effect of N-acetyl-L-cysteine

on *Babesia* and *Theileria* parasites. **Experimental Parasitology**. 2017; 179: 43-48. PMID: 28655583

11. Azirwan Guswanto, Puttik Allamanda, Euis Siti Mariamah, Tserendorf Munkjargal, Bumduuren Tuvshintulga, Hitoshi Takemae, Thillaiampalam Sivakumar, Mahmoud AbouLaila, Mohamad Alaa Terkawi, Madoka Ichikawa-Seki, Yoshifumi Nishikawa, Naoaki Yokoyama, **Ikuo Igarashi***. Evaluation of immunochromatographic test (ICT) strips for the serological detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Western Java, Indonesia. **Veterinary Parasitology**. 2017; 239: 76-79. PMID: 28413078
12. Ketsarin Kamyngkird, Shinuo Cao, Bumduuren Tuvshintulga, Akram Salama, Ahmed Abdelmoniem Mousa, Artemis Efstratiou, Yoshifumi Nishikawa, Naoaki Yokoyama, **Ikuo Igarashi**, Xuenan Xuan*. Effects of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors on the growth of *Theileria equi* and *Babesia caballi in vitro*. **Experimental Parasitology**. 2017; 76: 59-65. PMID: 28286324

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

1. 第 86 回日本寄生虫学会記念講演 (Research global and live local ～ピロプラズマ病研究を振り返って～)

9. 獲得研究費

1. 平成 28 年度 基盤研究 (A) (海外学術調査) (文部科学省)、ピロプラズマ病診断法の世界規模のリングトライアルによる国際標準法の確立 (16H02768)、代表、平成 28 年度～平成 30 年度
2. セルジーン株式会社 (米国)、バベシア病に対する新規薬剤の開発

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

1. 受賞者：五十嵐 郁男

受賞名：第 65 回桂田賞（第 87 回日本寄生虫学会）

受賞テーマ：ピロプラズマ症の診断および治療法の開発に関する研究

受賞年：平成 30 年 3 月 18 日

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. 石山 亜紀：北里大学北里生命科学研究所 熱帯病研究センター、抗生物質など天然由来化合物の抗バベシア活性評価と新規治療・予防薬への応用、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究

2. セルジーン株式会社：バベシア病に対する新規薬剤の開発

3. ピロプラズマ病診断法の世界規模のリングトライアルによる国際標準法の確立（科研）

馬ピロプラズマ病：英国・動植物安全庁、カナダ・食糧検査庁、インド・国立馬研究所、
タイ・チェンマイ大学

牛バベシア病：メキシコ・動物衛生研究所、アルゼンチン・農業技術中央研究所、
タイ・カセサート大学

1. 研究テーマの概要

牛ピロプラズマ（タイレリアおよびバベシア）病は、家畜動物に発熱や貧血などの消耗性疾患を引き起こし、世界で深刻な経済的被害をもたらしています。しかしながら、いずれの牛ピロプラズマ病に対しても有効な対策が確立されていません。そこで、その牛ピロプラズマ病に対する有効な対策を確立するために、1) 国内外の牛ピロプラズマに関する分子疫学調査による実態把握、2) タイレリア媒介マダニの同定とマダニ対策の考案、3) タイレリア感染に伴う牛免疫応答の解明とワクチンの開発、4) バベシアの赤血球侵入機序の解明とワクチンの開発、5) ワクチン候補分子の遺伝子多型とその簡易検出系の確立、6) 汚染国に適したオーダーメイド型サブユニットワクチンの確立などを実施しています。また、牛ピロプラズマ病の問題を抱える海外汚染国から若手研究者を受け入れて、研修と人材育成に努めるとともに、牛ピロプラズマ病の制圧に関する国際的共同研究ネットワークの構築にも取り組んでいます。

2. 主な研究テーマ

- ・ 牛ピロプラズマの赤血球侵入機序に関する基礎研究
- ・ 牛ピロプラズマの媒介マダニに関する疫学研究
- ・ 国内に蔓延する牛ピロプラズマの分子疫学および臨床病理学的研究
- ・ 野生シカが保有するピロプラズマの分子疫学的研究
- ・ 牛ピロプラズマ病に関する国際疫学調査
- ・ 牛ピロプラズマ病のワクチン開発に関する応用研究
- ・ 牛ピロプラズマ病の新規薬剤候補の探索に関する基礎研究

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ 牛タイレリア (*Theileria orientalis*) による牛小型ピロプラズマ病の発生が問題となっていた北海道東部の公共育成牧場において、北方系マダニ（シュルツェマダニ、ヤマトマダニなど）の生態を基盤としたマダニ対策予防プログラムを考案し、5年間にわたってそのプログラムを実施してきました。その結果、北方系マダニの最盛期（5～6月）における集中的な牛体へのマダニ対策（入牧前及び入牧直後2週間間隔毎最低3回の殺マダニ剤（フルメトリン製剤）の適用）を継続することが、牧野内の感染マダニと牛の新規感染を減少させる効率的な方法であることが証明されました。本論文は、帯広畜産大学・臨床獣医学部門と北海道ひがし農業共済組合との共同研究の成果です（論文リスト1）。
- ・ 牛バベシア (*Babesia bovis*) の BOV57 は、牛タイレリア (*Theileria parva*) のワクチン候補抗原として知られている P67 のホモログで、バベシア寄生サイクルのマダニ期及び牛血液期の両方で発現する原虫抗原です。しかし、BOV57 抗原のワクチンとしての潜在能力はこれまで調べられてきませんでした。そこで本研究では、まず組換え BOV57 (rBOV57) を作製し、

マウス及びウサギにおいて rBOV57 に対するポリクローナル抗体を作製しました。マウス抗 rBOV57 抗体を用いた間接蛍光抗体法では、BOV57 が血液寄生期メロゾイトの先端付近の原虫膜に局在していることが観察されました。さらに、試験管内原虫侵入阻害試験において、ウサギ抗 rBOV57 抗体は、*B. bovis* メロゾイトの赤血球侵入を有意に阻害することが分かりました。これらの知見は、*B. bovis* の BOV57 がメロゾイトの赤血球侵入に重要な役割を果たし、牛バベシア病に対する新たなサブユニットワクチンの候補抗原として活用できる可能性を示唆しています（論文リスト 7）。

- ・ 牛タイレリア (*Theileria orientalis*) は、しばしば感染牛に重篤な貧血を引き起こし、牛小型ピロプラズマ病を引き起こします。本研究では、北海道東部の流行地域で放牧されていた牛で測定された赤血球 (RBC) 指数を分析し、感染と貧血の関連性について調査しました。外来牛種であるホルスタインとヘレフォードでは、非感染群と比較して、感染群は低い RBC 数、ヘマトクリット値、及びヘモグロビン濃度 (HGB) を示しました。一方の在来種系統の日本短角種や黒毛種 (アングス種) ではそれらの減少が見られませんでした。結果として、ホルスタインとヘレフォードでのみ貧血牛 (HGB : 8 g / dl 以下を貧血と定義) が確認され、特にホルスタインではヘレフォードよりも高い貧血率を示すことが分かりました。牛タイレリアに感染した非貧血ヘレフォードの平均赤血球体積 (MCV) 及び平均赤血球ヘモグロビン (MCH) 値は非感染ヘレフォードのものより有意に高かったが、非貧血ホルスタインでは見られず、牛種別の溶血に対する宿主応答が貧血の発症に影響していることが示唆されました。この現象を確認するために、牛タイレリアを実験感染させた 3 頭のホルスタイン子牛の原虫寄生率及び RBC 指数についてモニターしました。感染させた子牛の中で低い原虫寄生率を示した牛は、MCV 値並びに MCH 値が上昇したものの貧血は見られませんでした。対照的に、高原虫寄生率を伴った牛は、高い MCV 値並びに MCH 値を示し、かつ HGB も低下して貧血を呈しました。ホルスタインとヘレフォードに見られた貧血は、大球性高色素性貧血に定義され、その症状は、ビタミン B1 や葉酸の不足もしくはその利用がうまくいかないときに生じるものと類似します。牛タイレリアは牛の骨髓造血能に影響することが示唆され、これを標的とした新たな対処療法が構築できる可能性が示唆されました。本論文は、産業技術総合研究所と帯広畜産大学・臨床獣医学部門との共同研究の成果です（論文リスト 12）。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会・評議委員
- ・ 日本獣医寄生虫学会・評議委員、理事
- ・ 日本寄生虫学会・評議委員
- ・ 日本熱帯医学会・評議委員
- ・ 日本衛生動物学会

② 主催した学会、研究会等

- ・ The 1st International Japan-Mongolia Joint Symposium on Protozoan Diseases Prevention, September 11, 2017 (NRCPD, Obihiro, Japan)

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンター 共同利用・共同研究拠点 共同研究委員会委員
- ・ 日本中央競馬会畜産振興事業 家畜呼吸器疾患制御事業推進委員会 委員

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. 猪熊 壽、横山直明、鈴木真生、河合孝弘、千葉友行、松井伸一、前野和利（2017）：北方系マダニの生態を基盤とした小型ピロプラズマ病予防対策の実施例、**牛臨床寄生虫研究会誌**、第7巻、第1号、p7-11。
2. Azirwan Guswanto, Puttik Allamanda, Euis Siti Mariamah, Sodirun Sodirun, Putut Eko Wibowo, Liliek Indrayani, Rudi Harso Nugroho, I Ketut Wirata, Nur Jannah, Lepsi Putri Dias, Hadi Purnama Wirawan, Rochmadi Yanto, Bumduuren Tuvshintulga, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi. Molecular and serological detection of bovine babesiosis in Indonesia. **Parasites & Vectors**. 2017; 10: 550. PMID: 29110723
3. Bumduuren Tuvshintulga, Mahmoud AbouLaila, Thillaiampalam Sivakumar, Dickson Stuart Tayebwa, Sambuu Gantuya, Khandsuren Naranbaatar, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Kazuhiko Ootoguro, Satoshi Ōmura, Mohamad Alaa Terkawi, Azirwan Guswanto, Mohamed Abdo Rizk, Naoaki Yokoyama and Ikuo Igarashi. Chemotherapeutic efficacies of a clofazimine and diminazene aceturate combination against piroplasm parasites and their AT-rich DNA-binding activity on *Babesia bovis*. **Scientific Reports**. 2017; 7:13888. PMID: 29066849
4. Mohamed Abdo Rizk, Shima Abd El-Salam El-Sayed, Mahmoud AbouLaila, Rasha Eltaysh, Naoaki Yokoyama and Ikuo Igarashi. Performance and consistency of a fluorescence-based high-throughput screening assay for use in *Babesia* drug screening in mice. **Scientific Reports**. 2017; 7:12774. PMID: 29038534
5. Rika Umemiya-Shirafuji, Takeshi Hatta, Kazuhiro Okubo, Moeko Sato, Hiroki Maeda, Aiko Kume, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi, Naotoshi Tsuji, Kozo Fujisaki, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki. Transovarial persistence of *Babesia ovata* DNA in a hard tick, *Haemaphysalis longicornis*, in a semi-artificial mouse skin membrane feeding system. **Acta Parasitologica**. 2017; 62: 836-841. PMID: 29035855
6. Shima Abd El-Salam El-Sayed, Mohamed Abdo Rizk, Mohamad Alaa Terkawi,

- Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Molecular identification and antigenic characterization of *Babesia divergens* Erythrocyte Binding Protein (BdEBP) as a potential vaccine candidate. **Parasitology International**. 2017; 66: 721-726. PMID: 28743470
7. Takahiro Ishizaki, Thillaiampalam Sivakumar, Kyoko Hayashida, Hitoshi Takemae, Bumduuren Tuvshintulga, Tserendorj Munkhjargal, Azirwan Guswanto, Ikuo Igarashi, **Naoaki Yokoyama***. *Babesia bovis* BOV57, a *Theileria parva* P67 homolog, is an invasion-related, neutralization-sensitive antigen. **Infection, Genetics and Evolution**. 2017; 54: 138-145. PMID: 28668608
 8. Mohamed Abdo Rizk, Shima Abd El-Salam El-Sayed, Mahmoud AbouLaila, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Evaluation of the inhibitory effect of N-acetyl-L-cysteine on *Babesia* and *Theileria* parasites. **Experimental Parasitology**. 2017; 179: 43-48. PMID: 28655583
 9. Azirwan Guswanto, Puttik Allamanda, Euis Siti Mariamah, Tserendorf Munkjargal, Bumduuren Tuvshintulga, Hitoshi Takemae, Thillaiampalam Sivakumar, Mahmoud AbouLaila, Mohamad Alaa Terkawi, Madoka Ichikawa-Seki, Yoshifumi Nishikawa, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Evaluation of immunochromatographic test (ICT) strips for the serological detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Western Java, Indonesia. **Veterinary Parasitology**. 2017; 239:76-79. PMID: 28413078
 10. Ketsarin Kamyngkird, Shinuo Cao, Bumduuren Tuvshintulga, Akram Salama, Ahmed Abdelmoniem Mousa, Artemis Efstratiou, Yoshifumi Nishikawa, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan*. Effects of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors on the growth of *Theileria equi* and *Babesia caballi* *in vitro*. **Experimental Parasitology**. 2017; 176: 59-65. PMID: 28286324
 11. Mahmoud AbouLaila, Bumduuren Tuvshintulga, Mohamed Abdo Rizk, Shima Abd El-Salam El-Sayed, **Naoaki Yokoyama** and Ikuo Igarashi. Serum-free GIT medium for short-term *in vitro* cultures of *Babesia bigemina*, *Babesia divergens*, and *Theileria equi*. **Journal of Protozoology Research**. 2017; 27: 13-22.
 12. Thillaiampalam Sivakumar, Ikehara Y, Ikuo Igarashi, Hisashi Inokuma, **Naoaki Yokoyama***. Dynamics of erythrocyte indices in relation to anemia development in *Theileria orientalis*-infected cattle. **Journal of Protozoology Research**. 2017; 27: 23-33.

総説

該当なし

著書

1. 横山直明 (分担執筆) : タイレリア、バベシア、p56-62. 獣医学教育モデル・コア・カリキュ

- ラム準拠「寄生虫病学」改訂版、日本獣医寄生虫学会 監修、緑書房、2017年
2. 横山直明（分担執筆）：感染に対する獲得免疫、p108-119、獣医学教育モデル・コア・カリキュラム準拠「獣医免疫学」第2刷、池田輝雄ら監修、緑書房、2018年

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

1. 平成 25 年度 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム(AMED/JICA)、モンゴルにおける家畜原虫病の疫学調査と社会実装可能な診断法の開発、代表、平成 25 年度～平成 30 年度
2. 平成 28 年度 革新的技術開発・緊急展開事業（地域戦略プロジェクト、農業・食品産業技術総合研究機構）、牛の放牧管理の効率化・生産性向上のための小型ピロプラズマ病ワクチンの実証研究（16789617）、代表、平成 28 年度～平成 30 年度
3. 平成 27 年度 二国間交流事業オープンパートナーシップ共同研究（日本学術振興会）、*Babesia bovis* の遺伝子多型に基づく牛バベシア症のワクチン戦略の確立、代表、平成 27 年度～平成 29 年度
4. 平成 29 年度 二国間交流事業オープンパートナーシップ共同研究（日本学術振興会）、スリランカで実装可能な牛バベシア病に対する簡易診断法の開発研究、代表、平成 29 年度～平成 31 年度
5. 平成 26 年度 基盤研究（A）（海外）（文部科学省）、スリランカにおける牛ピロプラズマ症の制圧に向けた実践研究（26257417）、代表、平成 26 年度～平成 29 年度
6. 平成 28 年度 基盤研究（B）（一般）（文部科学省）、牛バベシア病に対するオーダーメイド型サブユニットカクテルワクチンの開発研究（16H05033）、代表、平成 28 年度～平成 30 年度
7. 平成 29 年度 研究拠点形成事業-B.アジア・アフリカ学術基盤形成型（日本学術振興会）（代表 玄学南）、分担、平成 29 年度～平成 33 年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. Seekkuge Susil Priyantha Silva: Veterinary Sesech Institute, Sri Lanka, Reserch and Academic Collaboration between Veterinary Sesech Institute, Sri Lanka and National Research Center for Protozoan Disease, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medice, Japan、2014年4月～2018年3月、学術協定
2. Phung Thang Long : Hue University of Agriculture and Forestry, Development of immunochromatographic (ICT) assays applicable for the field survey of bovine babesiosis in Vietnam、2017年4月1日～2018年3月31日、平成29年度原虫病研究センター共同研究
3. 山根 芳多郎：共立製薬株式会社 先端技術開発センター、牛の小型ピロプラズマ病ワクチンの開発に関する試験研究、平成25年3月1日～平成30年3月31日、共同研究契約

1. 研究テーマの概要

原虫細胞での、酸化ストレス応答とレドックス（酸化・還元）シグナル、カルシウムシグナルに着目しています。生物は細胞内の酸化・還元バランスやカルシウム振動を利用して、様々な生理機能を調節しています。マラリア原虫およびバベシア原虫で、この仕組みやそこに働く分子の役割を「細胞を観ること」「イメージング実験」に重点を置いて調べています。一連の研究から、これら原虫病の対策に繋がる生命の仕組みや分子が見つかることを期待しています。

フィリピンでの日本住血吸虫症の排除（elimination）に向けて、この寄生虫病を現場で即時に正しく診断するポイント・オブ・ケア・テスト（POCT）を開発する研究（R&D）および、国内各流行地に分布する寄生虫の集団遺伝学的特性をマイクロサテライトマーカーを利用して解析する疫学研究を、日比米間の国際共同としておこなっています。

2. 主な研究テーマ

- ・ バベシア原虫での遺伝子改変技術の開発と、それを応用したライブイメージング研究
- ・ 日本住血吸虫症を診断する POCT の開発研究
- ・ フィリピンに分布する日本住血吸虫の集団遺伝学研究

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ ヒトで問題となっているマラリアや睡眠病などの病原原虫では、生物学的特性の解明および原虫病の治療・予防に有効な遺伝子探索を目的としたポストゲノム研究が進展し、遺伝子改変技術を駆使したゲノム機能解析および従来のワクチンより有用性が期待される次世代原虫ワクチン＝遺伝子改変原虫（Genetically-attenuated parasite: GAP）を用いた弱毒生ワクチンの開発等が精力的に進められています。一方、家畜の小型および大型ピロプラズマ原虫（タイレリア オリエンタリス及びバベシア・オバタ）における遺伝子操作技術は、マラリア原虫やトキソプラズマで汎用されている技術のレベルにはほど遠く、次世代治療・予防技術開発のための基盤技術の整備が急務になっております。そこで私達は、ピロプラズマ原虫における「家畜病害原虫のゲノム改変技術」の基盤を確立することを目的として研究をおこなっています。今年度は、大型ピロプラズマ原虫（バベシア・オバタ *Babesia ovata*）で GAP を開発するために必須となる同原虫のゲノムデータベースを完成して、専門誌に公表いたしました。このデータベースでは、ドラフトゲノムに RNA-seq のデータと融合することで、高精度アノテーションの取得を達成いたしました（論文リスト3）。
- ・ マラリアは世界 91 の国と地域で流行が認められる感染症で、年間 2 億人が新たにマラリアに感染し、このうち約 43 万人が不幸にしてこの感染症によって命を落としています。マラリアの治療は、抗マラリア薬による化学療法が基本になります。化学療法剤による感染症の治療は一般に薬剤耐性株出現との競争であり、マラリアのワクチンが開発の途上にあることを考慮す

れば、つねに新規の抗マラリア薬の開発に努めなければなりません。今年度は、インドネシアに自生するフクギ科の植物 *Garcinia celebica* の葉のエタノール抽出物から抗熱帯熱マラリア原虫活性を示す化合物 (Catechin) を同定して、専門誌に公表いたしました (論文リスト 4)。*G. celebica* はマンゴスチンの仲間で、野生のサルがこの葉を好んで食べることから、これまでも、抗がん作用のある化合物などの探索の対象とされてきました。今回見出された抗マラリア原虫活性は、Catechin が誘導する酸化ストレスに由来する可能性があります。現在、この化合物の新規抗マラリア薬創薬への応用に向けて、薬理作用の詳細について検討を進めています。

- ・ フィリピンでは国内 28 州に日本住血吸虫症の流行地があり、住民 500 万人が感染の危険に曝されています。私達の研究室では、国内の各流行地に分布する寄生虫の DNA を用いて分子疫学調査をおこない、各感染症流行地での寄生虫症の特性と寄生虫株の関係を解析した成績を、感染症対策の現場に還元しようとしています。今年度は、フィリピンの日本住血吸虫症流行地由来の寄生虫 DNA を対象とした 10 種類のマイクロサテライトマーカーによる多座位の遺伝子型 (multi-locus genotype: MLG) 解析の成果を専門誌に公表しました (論文リスト 6)。比較解析の結果、これら地域に分布する寄生虫集団は特定のクラスターに分離しないことがわかり、フィリピン中部ビサヤ地域および南部ミンダナオ島における寄生虫集団間での遺伝子流動が示唆されました。遺伝子流動の背後には、これらフィリピン国内の寄生虫病流行地間で患者と保虫宿主が頻繁に移動している実態が推測できます。また、今回のマイクロサテライト解析から得られた成績は、各島嶼に分布する寄生虫が一定の遺伝的背景を有する固有の集団へと収斂していないことを示唆しています。これは、現在これら地域でおこなわれている住民を対象とした集団駆虫 (Mass Drug Administration: MDA) を中心とする寄生虫症の制御対策が巧く機能していないことを意味しています。このような分子疫学解析から得られるデータは、日本住血吸虫症のフィリピン国内での振興・再興を予測する上での重要な情報になると考えます。更に有効な寄生虫病対策を実践し、またその効果を正確に評価するため、今後も、これら地域での寄生虫を対象とした集団遺伝学解析を継続しておこなってゆく必要があると考えます。現在、患者、スイギュウおよびイヌから得られた単一の虫卵から寄生虫の DNA を抽出して、MGL 解析をおこなう実験系の整備を進めています。
- ・ 一方、日本住血吸虫症の診断法を開発する研究では、成虫が患者血液中に分泌する抗原の検出に基づく血清診断法を開発を試みました。日本住血吸虫の排泄・分泌抗原 (excretory secretory antigen) から、分泌抗原のひとつ、Thioredoxin peroxidase-1 (SjTPx-1) を選択して、この抗原分子を実験感染動物や患者の血清中から検出するサンドイッチ酵素抗体法 (DAS-ELISA) を構築いたしました。現行の DAS-ELISA は患者血清からの抗原の検出感度が 40% と低く、フィールドでの性能評価に移行する前に、プロトコルの改良が必要です。抗原の検出に基づく診断法は、有病期の患者を効率的に診断するのに有効なツールになります (論文リスト 1)。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本寄生虫学会・理事（学術担当）
- ・ 日本熱帯医学会・理事（用語担当）
- ・ 日本獣医寄生虫学会・理事（副理事長）
- ・ 日本獣医学会・評議委員

② 主催した学会、研究会等

- ・ 第 25 回分子寄生虫学ワークショップ・第 15 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会（平成 29 年 8 月 27 日～8 月 30 日、帯広畜産大学原虫病研究センター）

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム世話人代表
- ・ 長崎大学熱帯医学研究所・熱帯医学研究拠点運営協議会委員
- ・ The Journal of Veterinary Medical Science 編集委員（寄生虫学担当）

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Adrian Miki C Macalanda, Jose Ma M Angeles, Kharleezelle J Moendeg, Anh Tm Dang, Luna Higuchi, Noboru Inoue, Xuenan Xuan, Masashi Kirinoki, Yuichi Chigusa, Lydia R Leonardo, Elena A Villacorte, Pilarita T Rivera, Yasuyuki Goto, **Shin-Ichiro Kawazu***. Evaluation of *Schistosoma japonicum* thioredoxin peroxidase-1 as a potential circulating antigen target for the diagnosis of Asian schistosomiasis. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 80: 156-163. PMID: 29187698
2. Mingming Liu, Paul Franck Adjou Moumouni, Shinuo Cao, Masahito Asada, Guanbo Wang, Yang Gao, Huanping Guo, Jixu Li, Patrick Vudriko, Artemis Efstratiou, Aaron Edmond Ringo, Seung-Hun Lee, Hassan Hakimi, Tatsunori Masatani, Fujiko Sunaga, **Shin-ichiro Kawazu**, Junya Yamagishi, Lijun Jia, Noboru Inoue, Xuenan Xuan*. Identification and characterization of interchangeable cross-species functional promoters between *Babesia gibsoni* and *Babesia bovis*. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2017; 9: 330-333. PMID: 29174364
3. Junya Yamagishi, Masahito Asada, Hassan Hakimi, Takeshi Q Tanaka, Chihiro Sugimoto and **Shin-ichiro Kawazu**. Whole-genome assembly of *Babesia ovata* and comparative genomics between closely related pathogens. **BMC Genomics**. 2017; 18: 832. PMID: 29078748
4. Rizky Abdulah, Eka W Suradji, Anas Subarnas, Unang Supratman, Milyadi Sugijanto, Ajeng Diantini, Keri Lestari, Melisa I Barliana, **Shin-ichiro Kawazu** and Hiroshi Koyama. Catechin isolated from *Garcinia celebica* leaves inhibit *Plasmodium falciparum*

- growth through the induction of oxidative stress. **Pharmacognosy Magazine**. 2017; 13: S301-305. PMID: 28808396
5. Mingming Liu, Masahito Asada, Shinuo Cao, Paul Franck Adjou Moumouni, Patrick Vudriko, Artemis Efstratiou, Hassan Hakimi, Tatsunori Masatani, Fujiko Sunaga, **Shin-ichiro Kawazu**, Junya Yamagishi, Xuenan Xuan*. Transient transfection of intraerythrocytic *Babesia gibsoni* using elongation factor-1 alpha promoter. **Molecular and Biochemical Parasitology**. 2017; 216: 56-59. PMID: 28729071
 6. Kharleezelle J Moendeg, Jose Ma M Angeles, Ryo Nakao, Lydia R Leonardo, Ian Kendrick C Fontanilla, Yasuyuki Goto, Masashi Kirinoki, Elena A Villacorte, Pilarita T Rivera, Noboru Inoue, Yuichi Chigusa, **Shin-ichiro Kawazu***. Geographic strain differentiation of *Schistosoma japonicum* in the Philippines using microsatellite markers. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 2017; 11: e005749. PMID: 28692692
 7. Akira Soga, Hironori Bando, Mami Ko-ketsu, Hirono Masuda-Suganuma, **Shin-ichiro Kawazu** and Shinya Fukumoto. High efficacy in vitro selection procedure for generating transgenic parasites of *Plasmodium berghei* using an antibiotic toxic to rodent hosts. **Scientific Reports**. 2017; 7: 4001. PMID: 28638105

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

1. Studies on development of *Babesia* parasites using the gene manipulation and bioimaging analysis, 10th National Congress of the Mexican Association of Veterinary Parasitologists (AMPAVE) (第 10 回メキシコ獣医寄生虫学会 (AMPAVE) : シンポジウム) , 2017 年 8 月 10 日 Puebla, Mexico
2. Investigation on intra-erythrocytic development of *Babesia* parasites using bioimaging analysis, 26th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) In conjunction with 53rd MSPTM Annual Conference (AMPAVE) (第 26 回世界獣医寄生虫学会議 (WAAVP) ・第 53 回マレーシア寄生虫学熱帯医学会大会 : プレナリーセッション) , 2017 年 9 月 8 日 Kuala Lumpur, Malaysia

9. 獲得研究費

1. GHIT-RFP-2014-002 (グローバルヘルス技術振興基金)、Development of a sensitive and specific point-of-care diagnostics for Asian zoonotic schistosomiasis (G2014-201R1)、代表、平成 27 年度～平成 29 年度 (平成 29 年 5 月 31 日)

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究 (共同研究契約締結分)

1. Romeo R. Quizon and Manuel B. Agulto : University of Philippines, Manila, MEMORANDUM OF UNDERSTANDING FOR ACADEMIC COOPERATION AND EXCHANGE BETWEEN COLLEGE OF PUBLIC HEALTH, UNIVERSITY OF THE PHILIPPINES MANILA, PHILIPPINES AND NATIONAL RESEARCH CENTER FOR PROTOZOAN DISEASES, OBIHIRO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE, JAPAN、2014 年 1 月～2019 年 12 月、学術交流協定
2. 麻田正仁 : 長崎大学熱帯医学研究所、*Babesia bovis* 感染赤血球における宿主血管内皮細胞接着機構の解明、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究

1. 研究テーマの概要

世界人口の2~3割が不顕性感染し、妊婦の初感染、HIV感染、加齢などによる免疫力の低下で症状が悪化することが大きな問題となっているトキソプラズマに着目し、宿主防御機構の解明や病原性発現機序の解明等の基礎研究を推進しています。

人間に身近にいるペットに着目し、公衆衛生上問題になる寄生虫の感染状況調査を行なっています。

2. 主な研究テーマ

- ・ トキソプラズマオーシスト壁の生化学的解析
- ・ トキソプラズマ症に対するワクチン開発
- ・ トキソプラズマ原虫の急性感染から慢性感染への移行過程の解析
- ・ 腸管感染寄生虫の疫学調査

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ 猫はトキソプラズマの唯一の終宿主であり、猫より排出されるオーシストによる環境の汚染は感染源として重要です。オーシストはオーシスト壁と呼ばれる固い外殻構造を持ち、そのため環境中で多くの消毒薬や環境の変化に対して抵抗性であり、数年を超えて生存しることにより、深刻な感染源となっています。我々は新規のオーシスト壁を構成するタンパク質を明らかにしました。
- ・ トキソプラズマは世界人口の2~3割が不顕性感染し、妊婦の初感染、HIV感染、加齢などによる免疫力の低下で症状が悪化することが大きな問題となっています。家畜においても流産を引き起こす等により、経済的損失の大きな感染症として認識されています。このことからワクチンの開発が望まれています。今のところ効果的なワクチンは開発されていません。一般的にワクチンは弱毒生ワクチンと不活化ワクチンに大別されます。生ワクチンは効果が高い反面、強毒化への復帰など安全性に問題があります。トキソプラズマは感染後筋肉内にシストを形成し、食肉として利用した場合に感染源となる可能性があります。このことから安全な生ワクチンの条件として、強毒復帰をしないこととともにシストを形成しないことが重要になります。我々はトキソプラズマの乳酸脱水素酵素に着目し、遺伝子を欠損させることにより弱毒化および低シスト形成性を獲得したトキソプラズマ原虫の作出に成功しました。この株はマウスモデルにおいて致死的なトキソプラズマ症を強く防御したことから、生ワクチンとして有望であることを示しました（論文リスト3）。
- ・ 猫はトキソプラズマの唯一の終宿主であり、猫より排出されるオーシストによる環境の汚染は感染源として重要です。猫の血清中のトキソプラズマ抗体価を正確に測定する目的で、現在一

一般的に使用されている組み換え抗原の最適な組み合わせの検討を行ないました（論文リスト4）。

- ・ 犬・猫は人間に最も身近な動物であり、寄生虫感染状況を知っておくことは公衆衛生上重要です。タイ北部における腸管内寄生虫の調査を行ない、約半数の犬・猫において何らかの寄生虫に感染していることを明らかにしました（論文リスト5）。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議委員
- ・ 日本獣医寄生虫学会評議委員
- ・ 日本寄生虫学会評議委員

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Wilawan Pumidonming, Hirotaka Katahira, **Makoto Igarashi**, Doaa Salman, Abdelbaset E Abdelbaset, Khamphon Sangkaeo. Potential risk of a liver fluke *Opisthorchis viverrini* infection brought by immigrants from prevalent areas: a case study in the lower Northern Thailand. **Acta Tropica**. 2018; 178 : 213-218. PMID: 29191517.
2. Doaa Salman, Liria Hiromi Okuda, Akio Ueno, George Dautu, Feifei Zhang, **Makoto Igarashi***. Evaluation of novel oocyst wall protein candidates of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology International**. 2017; 66: 643-651. PMID: 28571766
3. Abdelbaset E Abdelbaset, Barbara A Fox, Mohamed H Karram, Mahmoud R Abd Ellah, David J Bzik, **Makoto Igarashi***. Lactate dehydrogenase in *Toxoplasma gondii* controls virulence, bradyzoite differentiation, and chronic infection. **PLoS One**. 2017; 12: e0173745. PMID: 28323833
4. Abdelbaset Eweda Abdelbaset, Hend Alhasan, Doaa Salman, Mohamed Hassan Karram, Mahmoud Abd Ellah Rushdi, Xuan Xuenan, **Makoto Igarashi***. Evaluation of recombinant antigens in combination and single formula for diagnosis of feline toxoplasmosis. **Experimental Parasitology**. 2017; 172: 1-4. PMID: 27876472

5. Wilawan Pumidonming, Doaa Salman, Dulyatad Gronsang, Abdelbaset E Abdelbaset, Khamphon Sangkae, Shin-ichiro Kawazu, **Makoto Igarashi***. Prevalence of gastrointestinal helminth parasites of zoonotic significance in dogs and cats in lower Northern Thailand. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 78: 1779–1784. PMID: 27570099

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

該当なし

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

該当なし

1. 研究テーマの概要

マラリアは、結核、HIV と並んで世界三大感染症の一つに数えられ、本感染症に毎年約 2 億人が罹患し、40 万人以上の死亡が報告されています。トキソプラズマ症はネコを終宿主とする人獣共通感染症です。感染動物由来の食肉の生食やネコの糞中の虫卵から経口感染します。日本では成人の 20~30%が感染していますが、臨床上問題となるのは妊婦の初感染であり、妊婦が感染すると、胎児に経胎盤感染することにより流産や胎児の脳症等を引き起こします。クリプトスポリジウム症は、腹痛を伴う激しい下痢症状を起こし、水系感染による集団下痢事件の原因となります。老人や乳幼児では、死に至ることがあります。当研究分野では、マラリア（熱帯熱マラリア、ローデントマラリア）と人獣共通感染症として地球規模で問題となっているトキソプラズマ症、クリプトスポリジウム症を研究対象とし、「如何にして病原微生物は宿主細胞に感染し、増殖するのか」という命題について、主に分子生物学、ウイルス学の手法をもってアプローチしています。さらに、ここで得られた知見を基にした新しい抗原虫薬、原虫ワクチンの開発等の実用的な研究課題にも取り組んでいます。

2. 主な研究テーマ

- ・ 原虫による宿主細胞侵入、宿主細胞内増殖、潜伏感染、重症化の各機構の解明
- ・ 原虫の感染レセプターの同定と抗原虫薬としての糖鎖薬の実用化研究
- ・ 免疫制御細胞による原虫破壊機構の解明とペプチド、ナノ粒子を用いた抗原虫薬の開発
- ・ 原虫及び共生ウイルスを用いた分子疫学解析と分子診断系の開発
- ・ 原虫のエピジェネティック機構の解明
- ・ 既存薬、生薬、天然物を用いた抗原虫薬のスクリーニング

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ トキソプラズマは全人類の 1/3 が感染しているとされる広く蔓延した病原体です。トキソプラズマ感染は健康なヒトにおいては不顕性感染であるものの、免疫不全患者においては死に至ることもあります。しかし、その薬剤治療の選択肢は限られており、新しい治療法が求められています。本研究では金沢大学がん進展制御研究所より供与された天然物及びアメリカ食品医薬品局（FDA）認可化合物のライブラリーを用いて、抗トキソプラズマ活性の解析を行った。その結果、トキソプラズマの増殖を抑える 32 種の化合物を同定した。本研究成果は、抗原虫薬の選択肢を増やすために大規模なスクリーニングが行えるだけでなく、既存薬を他の用途に使用可能であるかを検証するために有効な手段を提供するものです。（論文リスト 1）
- ・ 熱帯熱マラリア原虫は、ハマダラ蚊の吸血によってヒトに感染し、ヒトの血液中の赤血球に感染して増殖します。現在までに有効なワクチンが開発できていない一方で、多くの種類のマラリア治療薬が臨床応用されています。しかし、現在使われている主な予防薬、治療薬に対して、

薬剤耐性マラリア原虫の出現が報告されており、さらなる予防薬、治療薬の開発が求められています。我々はこれまでに糖鎖の一種であるジェランガムに硫酸基を付加した硫酸化ジェランを合成し、*in vitro*において熱帯熱マラリア原虫の赤血球侵入と増殖を抑制することを示しました。また、硫酸化ジェランは宿主細胞毒性が低く、血液に対する抗凝固作用も低いことも明らかにしました。本研究では、硫酸化ジェランの抗マラリア活性について *in vivo* で解析を行いました。ローデントマラリア原虫である *Plasmodium berghei* ANKA、*P. yoelii* 17XL をマウスに感染させ、硫酸化ジェランの存在下で増殖阻止効果を解析した結果、ともに増殖阻止効果は乏しいことがわかりました。本研究は、マウスへのジェランガム、硫酸化ジェランへの投与に関する初めての報告です。（論文リスト2）

- ・ 現状のトキソプラズマ症に対する治療に対してはいくつかの欠点があり、他の選択薬や新しい治療法が求められています。我々はこれまでに金属ナノ粒子の抗トキソプラズマ作用を解析し、この作用には原虫の酸化還元シグナルが関与し、ミトコンドリアの膜電位に影響を与えることで、原虫の宿主細胞侵入、増殖、感染性に影響を与えることを明らかにしました。本研究ではさらにこの作用のメカニズムについて解析を行った結果、宿主細胞の低酸素誘導因子やキヌレニン経路、トリプトファン代謝経路が関わっていることがわかりました。本研究成果は、金属ナノ粒子の抗トキソプラズマ薬のシーズとしての可能性、抗原虫作用の分子メカニズムの解明に向けた新たな知見を提供するものです。（論文リスト3）
- ・ 現在用いられているトキソプラズマ症の治療薬は炎症などの症状を引き起こす原因であるタキゾイトに対しては有効ですが、潜伏感染を引き起こすブラディゾイトには効果がありません。そこで本研究では、タキゾイトの増殖を抑えるとともに、ブラディゾイトに対しても効果を示す化合物の探索を目的としました。東京大学創薬機構から供与された機能既知化合物のうち828個に対するスクリーニングを実施でき、まずタキゾイトの増殖を阻害する化合物を22個同定しました。続いてそれらの化合物の、宿主細胞毒性を示す濃度と原虫増殖阻害作用を示す濃度の差を検証し、その差が10倍以上である化合物を2個選抜しました。こうして選抜された化合物 TanshinoneIIA、Hydroxyzine に対して、原虫増殖に対する50%阻害濃度、化合物の作用機序、ブラディゾイトに対する効果を検証しました。その結果、これらの化合物が宿主細胞へのタキゾイトの侵入には効果を示さず、宿主細胞内での原虫の分裂・増殖に対して抑制的に働くことを明らかにしました。また、既存薬であるピリメタミンと比較してブラディゾイトを誘導しにくいことを明らかにしました。（論文リスト4）

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会 評議員
- ・ 日本ウイルス学会
- ・ 日本寄生虫学会 評議員
- ・ 日本獣医寄生虫学会 渉外・広報委員

- ・ 日本熱帯医学会

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 農林水産省 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業 一次審査専門評価委員

6. 平成 29 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Oluyomi Stephen Adeyemi, Tatsuki Sugi, Yongmei Han, **Kentaro Kato***. Screening of chemical compound libraries identified new anti-*Toxoplasma gondii* agents. Parasitology Research. **Parasitology Research**. 2018; 117: 355-363. PMID: 29260298
2. Recuenco Frances C, Takano Ryo, Sugi Tatsuki, Takemae Hitoshi, Murakoshi Fumi, Ishiwa Akiko, Inomata Atsuko, Enomoto-Rogers Yukiko, Fundador Noreen Grace V, Iwata Tadahisa, Horimoto Taisuke, Akashi Hiroomi, **Kato Kentaro***. Assessment of the growth inhibitory effect of gellan sulfate in rodent malaria *in vivo*. **Japanese Journal of Veterinary Research**. 2017; 65: 207-212.
3. Oluyomi Stephen Adeyemi, Yuho Murata, Tatsuki Sugi, Yongmei Han, **Kentaro Kato***. Modulation of host HIF-1α activity and the tryptophan pathway contributes to the anti-*Toxoplasma gondii* potential of nanoparticles. **Biochemistry and Biophysics Reports**. 2017; 11: 84-92. PMID: 28955772
4. Yuho Murata, Tatsuki Sugi, Louis M Weiss, **Kentaro Kato***. Identification of Compounds that Suppress *Toxoplasma gondii* Tachyzoites and Bradyzoites. **PLoS One**. 2017; 12: e0178203. PMID: 28609444
5. Shin Murakami, Akiko Takenaka-Uema, Tomoya Kobayashi, **Kentaro Kato**, Masayuki Shimojima, Massimo Palmarini, Taisuke Horimoto. Heparan sulfate proteoglycan is an important attachment factor for cell entry of Akabane and Schmallenberg viruses. **Journal of Virology**. 2017; 91: pii: e00503-17. PMID: 28539443

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 原虫病研究センター施設見学および寄生虫の標本展示、平成 29 年度帯広畜産大学オープンキャンパス、帯広畜産大学・原虫病研究センターPK ホール、2017 年 7 月 29 日

8. 招待講演等

1. Oluyomi Adeyemi、加藤健太郎「Exploring amino acid modification of nanoparticles for selective anti-parasite action and enhanced biocompatibility」、第 160 回日本獣医学会 日本獣医寄生虫学奨励賞受賞講演、2017 年 9 月 13 日
2. 加藤健太郎「トキソプラズマ症の病態発現機構と対策技術に関する研究」、第 160 回日本獣医学会 学会賞受賞講演、2017 年 9 月 14 日

9. 獲得研究費

1. 平成 28 年度 基盤研究 (C) (特設分野研究) (文部科学省)、食物循環の効率的維持のための家畜と感染性微生物の生態学 (16KT0141)、代表、平成 28 年度～平成 30 年度
2. 平成 29 年度 基盤研究 (B) (一般研究) (文部科学省)、トキソプラズマの潜伏感染虫体構成因子の網羅的解析 (17H03913)、代表、平成 29 年度～平成 31 年度
3. 平成 29 年度 基盤研究 (B) (海外学術研究) (文部科学省)、翼手目由来感染症リスクの対応戦略構築のための疫学的基礎データの収集 (17H04653)、分担、平成 29 年度～平成 31 年度
4. 平成 29 年度 共同利用・共同研究 一般研究 I (富山大学和漢医薬学総合研究所)、原虫感染症に有効な生薬由来化合物及び生薬エキスの同定とその作用機序の解析、代表、平成 29 年度
5. 平成 29 年度 医学研究奨励 (武田科学振興財団)、マラリアの病態発現の主因である赤血球膜への蛋白質輸送システムの解明、代表、平成 29 年度
6. 平成 29 年度 創薬支援推進事業 創薬総合支援事業 (AMED)、アカデミア創薬プラットフォームを活用した抗マラリア薬の探索、分担、平成 29 年度

10. 特許申請・取得

1. 加藤健太郎、アデエミ オルヨミ：抗トキソプラズマ剤及びこれを含む医薬、2017 年 4 月 7 日、特願 2017-076436
2. 加藤健太郎、村田 優穂、杉 達紀、野中 基弘：抗原虫作用を持つ生薬由来化合物と生薬エキス、2017 年 4 月 19 日、特願 2017-083202
3. 加藤健太郎、村越 ふみ：抗原虫作用を持つヒストン脱アセチル化酵素阻害剤、2017 年 8 月 22 日、特願 2017-159087
4. 加藤健太郎、アデエミ オルヨミ：抗トキソプラズマ原虫剤、2017 年 10 月 24 日、特願 2017-205211

11. 学術に関する受賞状況

1. 受賞者：Oluyomi Adeyemi

受賞名：第8回日本獣医寄生虫学奨励賞（日本獣医寄生虫学会）

受賞テーマ：Exploring amino acid modification of nanoparticles for selective anti-parasite action and enhanced biocompatibility

受賞年：平成29年9月13日

2. 受賞者：加藤健太郎

受賞名：2017-2018年度日本獣医学会賞（日本獣医学会）第122号

受賞テーマ：トキソプラズマ症の病態発現機構と対策技術に関する研究

受賞年：平成29年9月14日

12. 報道等

1. 北海道新聞（2017年4月7日16面）金属ナノ粒子の抗原虫効果についての記事掲載
2. 十勝毎日新聞（2017年11月14日21面）加藤准教授に獣医学会賞「トキソプラズマ」解析についての記事掲載

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. 門脇 真：富山大学和漢医薬学総合研究所、原虫感染症に有効な生薬由来化合物及び生薬エキスと同定とその作用機序の解析、2017年4月1日～2018年3月31日、平成29年度 富山大学和漢医薬学総合研究所 共同利用・共同研究 一般研究 I

1. 研究テーマの概要

動物トリパノソーマ症は国際獣疫事務局（OIE）が定める国際重要家畜疾患であり、またヒトアフリカトリパノソーマ症は世界保健機関（WHO）が定める「顧みられない熱帯病」であり、それぞれ対策が強く求められている原虫病です。我々の研究室では、トリパノソーマ症流行国での疫学調査を通じてその感染状況を明らかにするとともに、実際に流行国で被害をもたらしている“野外流行型トリパノソーマ”を感染動物から分離、実験室で実験を行えるように培養馴化させた株を独自に確立し、野外流行型トリパノソーマのゲノム解析、病原性解析、薬剤感受性試験などの基礎的研究を行っています。また、このようにして得られた野外流行型トリパノソーマの基礎研究成果をもとに、迅速かつ簡便にトリパノソーマ感染状態を把握可能な簡易診断技術の確立と社会実装に向けた研究及び新規トリパノソーマ症治療薬の探索と実用化に向けた研究を進めています。さらに OIE リファレンスラボラトリー（スーラ病（*Trypanosoma evansi* 感染症））として、動物トリパノソーマ病に関する各種診断業務を行っています。

2. 主な研究テーマ

- ・ トリパノソーマ症の疫学調査
- ・ 野外流行型トリパノソーマの分離培養法の確立および分離株の性状解析
- ・ トリパノソーマ症の迅速診断法の開発および社会実装に向けた研究
- ・ 既存薬及び天然物からの抗トリパノソーマ活性物質の探索

3. 平成 29 年度研究の総括

- ・ 媾疫（こうえき）トリパノソーマ（*Trypanosoma equiperdum*）はウマのトリパノソーマ症の一種で、主に血流中に寄生する他種トリパノソーマとは異なり生殖器粘膜に寄生し交尾によって感染が拡大します。媾疫は OIE の定める国際重要家畜疾患であるにもかかわらず、近年媾疫として報告された症例がほとんどなく、また研究を進める上で必須な培養馴化株がほとんど確立されていないため、その研究は非常に遅れていました。我々は地球規模課題対応国際科学技術協カプログラム（JICA/AMED SATREPS）を通じてモンゴル国の原虫病及び媒介節足動物の分布状況を明らかにする過程で、同国のウマで媾疫が蔓延していることを明らかにしました。さらに媾疫と診断されたオスウマの生殖器から、新規媾疫トリパノソーマ培養馴化株の確立に成功しました。本年度は新規媾疫トリパノソーマ培養馴化株を用いて薬剤感受性を *in vitro* で評価する試験系を開発しました（論文リスト 4）。また他種動物トリパノソーマ症で有効であることが確認されている遺伝子組換え抗原（rGM6 抗原）の媾疫診断に対する有効性の評価を行い、同抗原を用いた血清診断法が媾疫の診断及び疫学調査に対して有効であることが明らかになりました（論文リスト 11）（モンゴル国立生命科学大学 獣医学研究所との共同研究）。
- ・ 既存のトリパノソーマ症治療薬は毒性が強く、また限られた少数の薬剤を長く使用しているた

め、薬剤耐性トリパノソーマ症及び薬剤耐性トリパノソーマが多く報告されています。そのため新規トリパノソーマ症治療薬の開発が強く望まれています。さらに既存のトリパノソーマ治療薬は注射での投与が必要であるため、医療インフラが未整備な地方でも治療が可能な経口治療薬の開発が強く求められています。そこで我々は新規トリパノソーマ症治療薬の候補となりうる化合物を探索するために、既存薬としてすでに活用されている化合物の抗トリパノソーマ活性評価（ドラックリポジショニング）を行いました。その結果、抗生物質の一種であるアジスロマイシンに比較的強い抗トリパノソーマ活性があることがわかりました。さらにマウスを用いたトリパノソーマ感染モデルにおいて、アジスロマイシン経口投与により血中原虫数の上昇が抑制され生存率が有意に上昇することを明らかにしました（論文リスト4）。さらに様々な家畜感染症に対する薬用伝承を有するモンゴル産キノコ（*Fomitopsis officinalis*）抽出物中の抗トリパノソーマ活性を有する化合物群を単離、構造を決定し報告しました（論文リスト2）（東北医科薬科大学薬学部 生薬学教室との共同研究）。

- ・ スーダン国は世界第2位のラクダ飼養国であり、トリパノソーマ症によりラクダ産業に大きな経済被害が出ていると考えられています。そこでスーダン国の2地点からラクダ血液をサンプリングし、トリパノソーマ病に対する血清学的疫学調査および分子疫学調査を実施しました。その結果、これまでに報告のあった *Trypanozoon* 亜属トリパノソーマに加え、*Trypanosoma vivax* がスーダン国のラクダに感染していることを初めて明らかにしました（論文リスト12）。さら同国のイヌを対象に同様の疫学調査を行い、トリパノソーマ感染が蔓延していることが明らかになりました（論文リスト5）。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会
- ・ 日本獣医寄生虫学会
- ・ 日本寄生虫学会

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 平成29年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Seung-Hun Lee, Ehab Mossaad, Abdalla Mohamed Ibrahim, Ahmed Ali Ismail, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, Yang Gao, Huanping Guo, Jixu Li, Artemis Efstratiou, Peter Musinguzi, Tamador EE Angara, **Keisuke**

- Suganuma**, Noboru Inoue, Xuenan Xuan*. Detection and molecular characterization of tick-borne pathogens infecting sheep and goats in Blue Nile and West Kordofan states in Sudan. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2018; 9: 598-604. PMID: 29426590
2. Shinen Naranmandakh, Toshihiro Murata, Batsukh Odonbayar, **Keisuke Suganuma**, Javzan Batkhuu, Kenroh Sasaki. Lanostane triterpenoids from *Fomitopsis officinalis* and their trypanocidal activity. **Journal of Natural Medicines**. 2018; 72: 523–529. PMID: 29417466
 3. Thillaiampalam Sivakumar, Dinh Thi Bich Lan, Phung Thang Long, Le Quoc Viet, Gayani Weerasooriya, Aiko Kume, **Keisuke Suganuma**, Ikuo Igarashi, Naoaki Yokoyama. Serological and molecular surveys of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* among native cattle and cattle imported from Thailand in Hue, Vietnam. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2017; 80:333-336. PMID: 29249730
 4. Batdorj Davaasuren, Tovuu Amgalanbaatar, Simon Peter Musinguzi, **Keisuke Suganuma**, Davaajav Otgonsuren, Ehab Mossaad, Sandagdorj Narantsatsral, Banzragch Battur, Badgar Battsetseg, Xuenan Xuan, Noboru Inoue. The evaluation of GM6-based ELISA and ICT as diagnostic methods on a Mongolian farm with an outbreak of non-tsetse transmitted horse trypanosomosis. **Veterinary Parasitology**. 2017; 244:123-128. PMID: 28917303
 5. Ehab Mossaad, Rawan A Satti, Abdeen Fadul, **Keisuke Suganuma***, Bashir Salim, E A Elamin, Simon Peter Musinguzi, Xuenan Xuan, Noboru Inoue. The incrimination of three trypanosome species in clinically affected German shepherd dogs in Sudan. **Parasitology Research**. 2017; 116: 2921-2925. PMID: 28856450
 6. Duger Badral, Batsukh Odonbayar, Toshihiro Murata*, Tserendorj Munkhjargal, Bumduuren Tuvshintulga, Ikuo Igarashi, **Keisuke Suganuma**, Noboru Inoue, Adelheid H Brantner, Gendaram Odontuya, Kenroh Sasaki, Javzan Batkhuu. Flavonoid and Galloyl Glycosides Isolated from *Saxifraga spinulosa* and Their Antioxidative and Inhibitory Activities against Species That Cause Piroplasmosis. **Journal of Natural Products**. 2017; 80: 2416-2423. PMID: 28832147
 7. Abo El Fadl Eman A, El-Ashker Maged, **Suganuma Keisuke**, Kayano Mitsunori. Discriminant analysis for the prediction and classification of tick-borne infections in some dairy cattle herds at Dakahlia Governorate, Egypt. **Japanese Journal of Veterinary Research**. 2017; 65: 127-133.
 8. Nthatisi Innocentia Molefe, Shino Yamasaki, Adrian Miki C Macalanda, **Keisuke Suganuma**, Kenichi Watanabe, Xuenan Xuan, Noboru Inoue. Oral administration of azithromycin ameliorates trypanosomosis in *Trypanosoma congolense*-infected Mice. **Parasitology Research**. 2017; 116: 2407-2415. PMID: 28674747
 9. Moeti O Taioe, Makhosazana Y Motloang, Boniface Namangala, Amos Chota, Nthatisi

- I Molefe, Simon P Musinguzi, **Keisuke Suganuma**, Polly Hayes, Toi J Tsilo, John Chainey, Noboru Inoue, Oriol M M Thekiso. Characterisation of tabanid flies (Diptera: Tabanidae) in South Africa and Zambia and detection of protozoan parasites they are harbouring. **Parasitology**. 2017; 144: 1162-1178. PMID: 28502276
10. **Keisuke Suganuma***, Nthati Innocentia Molefe, Noboru Inoue. An ATP-Based Luciferase Viability Assay for Animal African Trypanosomes Using a 96-Well Plate. **Methods in Molecular Biology**. 2017; 1601: 89-95. PMID: 28470520
11. **Keisuke Suganuma***, Shino Yamasaki, Nthati Innocentia Molefe, Peter Simon Musinguzi, Batdorj Davaasuren, Ehab Mossaad, Sandagdorj Narantsatsral, Banzragch Battur, Badgar Battsetseg, Noboru Inoue. The establishment of *in vitro* culture and drug screening system for a newly isolated strain of *Trypanosoma equiperdum*. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. 2017; 7: 200-205. PMID: 28437733
12. Ehab Mossaad, Bashir Salim, **Keisuke Suganuma**, Peter Musinguzi, Mohammed A Hassan, E A Elamin, G E Mohammed, Amel O Bakhiet, Xuenan Xuan, Rawan A Satti and Noboru Inoue. *Trypanosoma vivax* is the second leading cause of camel trypanosomiasis in Sudan after *Trypanosoma evansi*. **Parasites & Vectors**. 2017; 10:176. PMID: 28403897
13. Albertus Eka Yudistira Sarwono, **Keisuke Suganuma**, Shinya Mitsuhashi, Tadashi Okada, Simon Peter Musinguzi, Kengo Shigetomi, Noboru Inoue, Makoto Ubukata. Identification and characterization of guanosine 5'-monophosphate reductase of *Trypanosoma congolense* as a drug target. **Parasitology International**. 2017; 66: 537-544. PMID: 28366788

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 2017年7月29日 帯広畜産大学オープンキャンパス「原虫病への挑戦」
2. 2017年12月9日 畜大ふれあいフェスティバル「寄生虫を観察してみよう～顕微鏡や虫眼鏡で寄生虫・マダニ・昆虫を観察してみない?～」

8. 招待講演等

1. 菅沼啓輔. トリパノソーマとトリパノソーマ症について、早稲田大学 先進理工学術院、2018年2月、東京

2. 菅沼啓輔、Narantsatsral S, Battsetseg B, Battur B, 井上昇. モンゴルにおける媾疫トリパノソーマの研究、第 86 回寄生虫学会大会 生態・疫学談話会、2017 年 3 月、札幌、北海道
3. Suganuma K, Murata T, Molefe NI, Narantsatsral S, Orkhon B, Batsukh O, Davaasuren B, Mizushima B, Javzan B, Sasaki K, Battur B, Battsetseg B, Inoue N. Establishment of in vitro drug sensitivity assay against *T. equiperdum* Mongolian strains and the screening of trypanocidal compounds extracted from Mongolian herbal plants. Achievements and current level of veterinary-biological sciences, 2017, Sept., 27, Ulaanbaatar, Mongolia
4. Suganuma K, Narantsatsral S, Battur B, Battsetseg B, Inoue N. Characterisation of newly isolated and culture adapted *Trypanosoma equiperdum*. 2nd International Conference on Non Tsetse Transmitted Animal Trypanosomosis, 2017, Dec., 18-19, Antwerp, Belgium

9. 獲得研究費

1. 平成 28 年度 若手研究 (B) (文部科学省)、抗トリパノソーマ作用機序評価系の確立と新規創薬への応用 (16K18793)、代表、平成 28 年度～平成 31 年度
2. 平成 28 年度 基盤研究 (B) (一般) (文部科学省)、ベクター媒介性病原体における宿主トランジション応答機構 (16H05026)、分担、平成 28 年度～平成 30 年度
3. 平成 27 年度 アフリカにおける顧みられない熱帯病 (NTDs) 対策のための国際共同研究プログラム (国立研究開発法人 日本医療研究開発機構)、迅速診断法の開発とリスク分析に基づいた顧みられない熱帯病対策モデルの創成、分担、平成 27 年度～平成 31 年度
4. 平成 29 年度 笹川科学研究助成、接着と組織侵入から探る媾疫 (こうえき) トリパノソーマの寄生適応戦略 (29-509)、代表、平成 29 年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究 (共同研究契約締結分)

1. 村田 敏拓：東北医科薬科大学・生薬学教室、モンゴル国伝統薬用植物成分の抗トリパノソーマ活性評価による現地原虫病対策への応用、2017 年 4 月 1 日～2018 年 3 月 31 日、平成 29 年度原虫病研究センター共同研究

2. 中尾 洋一：早稲田大学・先進理工学学部・ケミカルバイオロジー研究室、抗トリパノソーマ活性を持つ海洋生物由来リード化合物の探索、2017年4月1日～2018年3月31日、平成29年度原虫病研究センター共同研究
3. 渡邊 謙一：帯広畜産大学・グローバルアグロメディシン研究センター、媾疫における宿主免疫応答と末梢神経病変の発生機序に関する研究、2017年4月1日～2018年3月31日、平成29年度原虫病研究センター共同研究