

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によって、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ンポ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
- ・ タイ王国における節足動物媒介性寄生虫感染症の疫学調査
- ・ 沖縄県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. 2019 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、薬剤存在下の人工合成による薬剤耐性マーカー遺伝子の利用を考案し、本法を用いピューロマイシン・プ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3)。

- ・ 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、多様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。令和元年度においては、その中でもタイレリア、クリプトスポリジウムについて調査を行いました。タイレリアについては高度に蔓延していること、クリプトスポリジウム Deer Genotype がエゾシカの優性種であることが確認されました。(論文リスト 1,6,8,9)。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本衛生動物学会幹事
- ・ 日本分子生物学会
- ・ 日本寄生虫学会評議員
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本食品微生物学会

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. 2019 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. Takahiro Shirozu, Akira Soga, Yuki Morishita, Nobuaki Seki, Mami Ko-ketsu, **Shinya Fukumoto***. Prevalence and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* infections in Yezo sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in the Tokachi sub-prefecture of Hokkaido, Japan. **Parasitology International**. 2020, 76:102064. PMID: 31978598
2. Yenni Yusuf, Tatsuya Yoshii, Mitsuhiro Iyori, Hiroaki Mizukami, **Shinya Fukumoto**, Daisuke S. Yamamoto, Talha Bin Emran, Fitri Amelia, Ashekul Islam, Intan Syafira, and Shigeto Yoshida. A viral-vectored multi-stage malaria vaccine regimen with protective and transmission-blocking efficacies. **Frontiers in Immunology**. 2019, 10:2412. PMID: 31681301
3. Akira Soga, Takahiro Shirozu, Mami Ko-ketsu & **Shinya Fukumoto***. Improvement of an in vitro drug selection method for generating transgenic *Plasmodium berghei*

- parasites. **Malaria Journal**. 2019, 18(1):215. PMID: 31238932
4. Hironori Bando, Ariel Pradipta, Shiroh Iwanaga, Toru Okamoto, Daisuke Okuzaki, Shun Tanaka, Joel Vega-Rodríguez, Youngae Lee, Ji Su Ma, Naoya Sakaguchi, Akira Soga, **Shinya Fukumoto**, Miwa Sasai, Yoshiharu Matsuura, Masao Yuda, Marcelo Jacobs-Lorena, Masahiro Yamamoto. CXCR4 regulates *Plasmodium* development in mouse and human hepatocytes. **The Journal of Experimental Medicine**. 2019, 216(8):1733-48. PMID: 31189656
 5. Yenni Yusuf, Tatsuya Yoshii, Mitsuhiro Iyori, Kunitaka Yoshida, Hiroaki Mizukami, **Shinya Fukumoto**, Daisuke S Yamamoto, Asrar Alam, Talha Bin Emran, Fitri Amelia, Ashekul Islam, Hiromu Otsuka, Eizo Takashima, Takafumi Tsuboi and Shigeto Yoshida. Adeno-Associated Virus as an Effective Malaria Booster Vaccine Following Adenovirus Priming. **Frontiers in Immunology**. 2019, 10:730. PMID: 31024558
 6. Tokio Hoshina, **Shinya Fukumoto**, Hiroka Aonuma, Erisha Saiki, Seiji Hori, Hirotaka Kanuka. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild sika deer in Japan. **Parasitology International**. 2019, 71:76-9. PMID: 30940609
 7. Aboubacar Sombié, Erisha Saiki, Félix Yaméogo, Tatsuya Sakurai, Takahiro Shirozu, **Shinya Fukumoto**, Antoine Sanon, David Weetman, Philip J. McCall, Hirotaka Kanuka and Athanase Badolo. High frequencies of F1534C and V1016I kdr mutations and association with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Somgande (Ouagadougou), Burkina Faso. **Tropical Medicine and Health**. 2019, 47:2. PMID: 30787670
 8. Seung-Hun Lee, Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Patrick Vudriko, Mingming Liu, Byamukama Benedicto, Maria Agnes Tumwebaze, Damdinsuren Boldbaatar, Rika Umemiya-Shirafuji, **Shinya Fukumoto***, Xuenan Xuan. Differential diagnosis and molecular characterization of *Theileria spp.* in sika deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido, Japan. **Parasitology International**. 2019, 70:23-6. PMID: 30664981
 9. Jamsransuren Dulamjav, Yoshii Kentaro, Kariwa Hiroaki, Asakawa Mitsuhiko, Okuda Kei, Fujii Kei, **Fukumoto Shinya**, Umemiya-Shirafuji Rika, Sasaki Motoki, Matsumoto Kotaro, Yamaguchi Emi, Ogawa Haruko, Imai Kunitoshi. Epidemiological survey of tick-borne encephalitis virus infection in wild animals on Hokkaido and Honshu islands, Japan. **Japanese Journal of Veterinary Research**. 2019, 67(2):163-72.

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. ベクターステージにおける犬糸状虫伝播制御への試み 第 75 回日本寄生虫学会西日本支部大会、金沢市金沢大学、令和元年 9 月 22 日

9. 獲得研究費

1. 平成 31 年度 基盤研究 (B) (一般) (文部科学省) ベクター蚊におけるフィラリア媒介能獲得機構の遺伝学的分子基盤の解明 (19H03121)、代表、平成 31 年度～令和 3 年度
2. 平成 31 年度 挑戦的萌芽研究 (文部科学省) 殺ベクター型原虫による病原体媒介蚊制御法の開発 (19K22355)、代表、平成 31 年度～令和 2 年度
3. 平成 26 年度 国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化(B)) (文部科学省) フィラリアを媒介しない蚊作出に向けたタイ王国における犬糸状虫の生態疫学調査 (19KK0175)、代表、令和元年度～令和 5 年度

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：曾賀 晃 (当時大学院生)
受賞名：第 10 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：齧歯類マラリア原虫における宿主毒性抗生剤を用いた効率的薬剤選択法の確立
受賞年：令和元年 9 月 10 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. 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. 篠井 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 31 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、バベシア症やトキソプラズマ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。バベシアやトキソプラズマに感染し、回復した動物は同じ種または近縁種の原虫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、新規ワクチン開発につながります。バベシア症は重度の溶血性貧血を主徴としますが、この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。一方、バベシアを媒介するマダニ体内における虫体の発育ステージの解明と伝播阻止ワクチンの開発にも取り組んでいます。また、国内外におけるマダニ媒介感染症の流行実態の調査と制御戦略の確立に関する研究も展開しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ バベシア症などにおけ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生貧血の分子機構の解明
- ・ バベシア症やトキソプラズマ症に対する治療・予防法の開発
- ・ マダニ体内におけるバベシア原虫発育の分子基盤の解明と伝播阻止ワクチンの開発
- ・ マダニ媒介感染症の流行実態の調査と制御戦略の確立

3. 2019 年度研究の総括

- ・ 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。近年、ヒトのバベシア症例の報告は増加の傾向にあり、その予防対策が求められています。バベシア属には、*B. microti* を含め 100 種類以上特定されていますが、いまのところ遺伝子操作ができるのは牛バベシアや犬バベシアに限られています。そこで、*B. microti* の遺伝子操作系の確立を試みました。*B. microti* のゲノムデータベースよりアクチン、伸長因子、HSP70 のプロモーター領域を特定し、ルシフェラーゼ (Luc) をレポーターとした遺伝子発現プラスミドを構築しました。これらのプラスミドを *B. microti* に導入したところ、Luc 遺伝子の一過性発現に成功しました。なお、プロモーター活性比較では、アクチン由来のプロモーターが最も高い活性を示しました。これらの結果により、今後 *B. microti* の薬剤標的解析や組換えワクチン開発への進展が期待されます。(論文リスト 2)
- ・ 犬バベシア症は、バベシア (*Babesia canis*, *Babesia gibsoni*) の赤血球内寄生によって引き起こされるマダニ媒介性疾患であります。バベシアに感染した犬は、重度な溶血性貧血を引き起こし、死に至る場合も多いです。日本を含む世界中に発生が認められ、その被害は深刻とさ

れるが、いまだに副作用の少ない有効な治療法が開発されていないのが現状であります。そこで、当研究室では特に日本を含むアジア地域で流行が深刻とされる犬バベシア (*B. gibsoni*) 症に対する治療法やワクチン開発の研究に注力してきました。今回は、サイバーグリーン (核酸染色用色素) を用いたハイスループットスクリーニング方法を確立しました。この方法を活用することで、今後種々の化合物ライブラリーの抗 *B. gibsoni* の効果測定を効率的に行うことができるようになりました。(論文リスト4)

- ・ トキソプラズマは、妊婦が初感染すると流産や異常産を引き起こし、免疫不全者には重篤な脳症などを引き起こす、人獣共通感染症の原因原虫であります。現行の治療法には副作用などの問題があり、より安全な治療法の確立が求められています。本研究では、トキソプラズマのアスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AAT) 遺伝子を標的とした治療法の確立を試みました。AAT のインヒビターとしてしられるヒドロキシルアミン (HYD) とカルボキシメトキシルアミン (CAR) のトキソプラズマ虫体増殖への抑制効果を調べたところ、これらの化合物が試験管内とマウス体内で、何れも殺原虫作用が認められました。しかしながら、AAT 遺伝子欠損原虫においても、これらの原虫増殖抑制作用は顕著には減弱されなかったことから、HYD と CAR の殺トキソプラズマ作用には、AAT 非依存的経路も存在することが示唆されました。今後、AAT の他のインヒビターの探索や HYD・CAR の殺原虫作用機序のさらなる解明が求められます。(論文リスト6)
- ・ 中国、フィリピン、ケニア、南アフリカなどにおける家畜 (牛・水牛・ヤク・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。調査した地域において、バベシア属、タイレリア属、アナプラズマ属、エーリキア属、リケッチア属などが、家畜生産に被害を与えるマダニ媒介感染症であることがそれぞれ明らかになりました。これらの結果は、調査した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問題提起するものであります。(論文リスト1、8、10、11、14、15)

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

- ・ 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) (2019年9月25日、当センター)
- ・ モンゴル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 (2019年6月20日、モンゴル獣医学研究所)

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 長崎大学熱帯医学研究所運営協議会委員

6. 2019 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. Yingna Jian, Jixu Li, Paul Franck Adjou Moumouni, Xueyong Zhang, Maria Agnes Tumwebaze, Geping Wang, Qigang Cai, Xiuping Li, Guanghua Wang, Mingming Liu, Yongchang Li, Liqing Ma, Xuenan Xuan*. Human spotted fever group *Rickettsia* infecting yaks (*Bos grunniens*) in the Qinghai-Tibetan plateau area. **Pathogen**. 2020; 9: e249. PMID: 32231020
2. Mingming Liu, Shengwei Ji, Mohamed Abdo Rizk, Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Jixu Li, Yongchang Li, Weiqing Zheng, Byamukama Benedicto, Maria Agnes Tumwebaze, Masahito Asada, Xuenan Xuan*. Transient transfection of the zoonotic parasite *Babesia microti*. **Pathogens**. 2020; 9: e108. PMID: 32050586
3. Afraa Elata, Ehab Mossaad, Rawan Satti, Nadia Matar, Yuma Ohari, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma. Serological and molecular detection of selected hemoprotozoan parasites in donkeys in West Omdurman, Khartoum State, Sudan. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82: 286-293. PMID: 31969541
4. Mohamed Abdo Rizk, Shengwei Ji, Mingming Liu, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Yongchang Li, Benedicto Byamukama, Aaron Sdmond Ringo, Xuenan Xuan*, Ikuo Igarashi. Closing the empty anti-*Babesia gibsoni* drug pipeline in vitro using fluorescence-based high throughput screening assay. **Parasitology International**. 2020; 75: 102054. PMID: 31927139
5. Yongchang Li, Mingming Liu, Mohamed Abdo Rizk, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Eloiza May Galon, Huanping Guo, Yang Gao, Jixu Li, Amani Magdy Beshbishy, Arifin Budiman Nugraha, Shengwei Ji, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi I, Xuenan Xuan*. Drug screening of food and drug administration-approved compounds against *Babesia bovis* in vitro. **Experimental Parasitology**. 2020; 210: 107831. 31926147
6. Jixu Li, Huanping Guo, Eloiza May Galon, Yang Gao, Seung-Hun Lee, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Honglin Jia, Xuenan Xuan*. Hydroxylamine and carboxymethoxylamine can inhibit *Toxoplasma gondii* growth through an aspartate aminotransferase-independent pathway. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2020; 64: e01889. PMID: 31907178
7. Ehab Mossaad, Ahmed Ali Ismail, Abdalla Mohame Ibrahim, Peter Musinguzi, Tama-dor Angara, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma. Prevalence of different trypanosomes in livestock in Blue Nile and West Kordafan States, Sudan. **Acta**

- Tropica.** 2020; 203: 105302. PMID: 31857080
8. Jixu Li, Yongchang Li, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Eloiza May Galon, Maria Agnes Tumwebaze, Hongxia Yang, Huercha, Mingming Liu, Huangping Guo, Yang Gao, Benedicto Byamukama, Wei Zhang, Xinli Fan, Bayin Chahan, Xuenan Xuan*. First description of *Coxiella burnetii* and *Rickettsia* spp. infection and molecular detection of piroplasma co-infecting horses in Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. **Parasitology International.** 2020; 76: 102028. PMID: 31759172
 9. Yuna Kurokawa, Tatsunori Masatani, Rikako Konishi, Kanna Tomioku, Xuenan Xuan, Akikazu Fujita. Nanoscale analysis reveals no domain formation of glycosylphosphatidylinositol-anchored protein SAG1 in the plasma membrane of living *Toxoplasma gondii*. **Histochemistry and Cell Biology.** 2019; 152: 365-375. PMID: 31542792
 10. Adrian Ybañez, Orgil Arrabis, Dennis Justin Alvarez, Eloiza May Galon, Rhea mae Jayag, Elmie Delan, Rochelle Haidee Ybañez, Xuenan Xuan*. Evaluation on the presence of *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and *Babesia* spp. in goats (*Capra hircus*) in Cebu, the Philippines. **Veterinary World.** 2019; 12: 774-777. PMID: 31439992
 11. Aaron Ringo, Gabriel Aboge, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Yang Gao, Huangping Guo, Weiqing Zheng, Artemis Efstratiou, Eloiza May Galon, Jixu Li, Oriel Thekiso, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan*. Molecular detection and genetic characterisation of pathogenic *Theileria*, *Anaplasma* and *Ehrlichia* species among apparently healthy sheep in central and western Kenya. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research.** 2019; 86: e1-e8. PMID: 31291731
 12. Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee Ybañez, Adrian Miki Macalanda, Mingming Liu, Artemis Efstratiou, Aaron Ringo, Seung-Hun Lee, Yang Gao, Huanping Guo, Jixu Li, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Yongchang Li, Adrian Ybañez AP, Xuena Xuan X*. Molecular evidence of hemotropic mycoplasmas in goats from Cebu, Philippines. **Journal of Veterinary Medical Science.** 2019; 81: 869-873. PMID: 31061273
 13. Ehab Mossaad, Bashir Salim, Keisuke Suganuma, Mohammed Hassan, Batdorj Davaasuren, Elgailani Elamin, Amel Bakhiet, Rawan Satti, Xuenan Xuan, Simon Peter Musinguzi, Noboru Inoue. Utilization of crude and recombinant ELISAs for serodiagnosis of camel trypanosomosis in Sudan. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports.** 2019; 16:100278. PMID: 31027599
 14. Huanping Guo, Paul Franck Adjou Moumouni, Oriel Thekiso, Yang Gao, Mingming Liu, Jixu Li, Eloiza May Galon, Artemis Efstratiou, Gunbo Wang, Charoonluk Jirapattharasate, Aaron Edmond Ringo, Khethiwe Mtshali, Noboru Inoue, Hiroshi Su-

- zuki, **Xuenan Xuan***. Genetic characterization of tick-borne pathogens in ticks infesting cattle and sheep from three South African provinces. **Ticks and Tick-Borne Diseases**. 2019; 10: 875-882. PMID: 31010732
15. Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee Ybañez, Asron Ringo, Artemis Efstratiou, Seung-Hun Lee, Mingming Liu, Huanping Guo, Yang Gao, Jixu Li, Caro Salces, Bon Christian Maurillo, Damdinsuren Boldbaatar, Adrian Ybañez, **Xuenan Xuan***. First molecular detection and characterization of tick-borne pathogens in water buffaloes in Bohol, Philippines. **Ticks and Tick-Borne Diseases**. 2019; 10: 815-821. PMID: 30952580
 16. Huanping Guo, Yang Gao, Honlin Jia, Paul Franck Adjou Moumouni, Tasunori Masatani, Mingming Liu, Seung-Hun Lee, Eloiza May Galon, Jixu Li, Yongchang Li, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, **Xuenan Xuan***. Characterization of strain-specific phenotypes associated with knockout of dense granule protein 9 in *Toxoplasma gondii*. **Molecular Biochemical Parasitology**. 2019; 229:53-61. PMID: 30849416
 17. Nthatisi I Molefe, Peter S Musinguzi, Daisuke Kondoh, Kenichi Watanabe, Oriel M M Thekiso, **Xuenan Xuan**, Noboru Inoue, Keisuke Sukanuma. Short- and long-term effects of orally administered azithromycin on *Trypanosoma brucei brucei*-infected mice. **Experimental Parasitology**. 2019; 199: 40-46. PMID: 30840850
 18. Ybañez Adrian P, Ybañez Rochelle Haidee D, Armonia Reynald Klint M, Chico James Knowell E, Ferraren Kevin James V, Tapdasan Emerson P, Salces Caro B, Maurillo Bon Christian A, Galon Eloiza May S, Macalanda Adrian Miki C, Moumouni Paul Franck A., **Xuenan Xuan***. First molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and the ectoparasite biodiversity in dairy water buffalo and cattle in Bohol, Philippines. **Parasitology International**. 2019; 70: 77-81. PMID: 30776450
 19. Seung-Hun Lee, Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Patrick Vudriko, Mingming Liu, Byamukama Benedicto, Maria Agnes Tumwebaze, Damdinsuren Boldbaatar, Rika Umemiya-Shirafuji, Shinya Fukumoto, **Xuenan Xuan***. Differential diagnosis and molecular characterization of *Theileria* spp. in sika deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido, Japan. **Parasitology International**. 2019; 70: 23-26. PMID: 30664981
 20. Mingming Liu, Tatsunori Masatani, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Eloiza May Galon, Yang Gao, Huanping Guo, Jixu Li, Yongchang Li, **Xuenan Xuan***. Inhibitory effects of the phytohormone inhibitors fluridone and inabenfide against *Babesia gibsoni* *in vitro*. **Veterinary Parasitology**. 2019; 265: 19-23. PMID: 30638516
 21. Weiqing Zheng, **Xuenan Xuan**, Renlong Fu, Huiying Tao, Rongman Xu, Yangqing Liu, Xiaoqing Liu, Jiafu Jiang, Haixia Wu, Hongmei Ma, Yi Sun, Haiying Chen. Preliminary

investigation of ixodid ticks in Jiangxi Province of Eastern China. **Experimental and Applied Acarology**. 2019; 77: 93-104. PMID: 30542968

総説

1. Mohamed Abdo Rizk, Shima Abd El-Sayed El-Sayed, Medhat Nassif, Juan Mosqueda, **Xuenan Xuan**, Ikuo Igarashi. Assay methods for *in vitro* and *in vivo* anti-*Babesia* drug efficacy testing: Current progress, outlook, and challenges. **Veterinary Parasitology**. 2020; 279: 109013. PMID: 32070899
2. Thankgod Onyiche, Keisuke Suganuma, Ikuo Igarashi, Naoaki Yokoyama N, **Xuenan Xuan**, Oriel Thekisoe. A review on equine piroplasmiasis: Epidemiology, vector ecology, risk factors, host immunity, diagnosis and control. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2019; 16: e1736. PMID: 31100920

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

FM-JAGA（ラジオ局）にて原虫病研究センターの国際協力活動を紹介（2019年10月26日）

9. 獲得研究費

1. 平成 31 年度 研究拠点形成事業（アジア・アフリカ学術基盤形成型）（日本学術振興会）、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、2018 年度～2019 年度
2. 平成 31 年度 基盤研究（B）（一般）（文部科学省）、マダニ体内におけるバベシア原虫発育の分子基盤の解明と伝播阻止ワクチンの開発、代表、2018 年度～2021 年度
3. 平成 31 年度 国際共同研究強化（B）（文部科学省）、トルコにおける家畜バベシア症に対するゲノム疫学調査と実践的制御戦略の確立、代表、2018 年度～2021 年度
4. 平成 31 年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、マダニ体内におけるバベシア原虫発育の分子基盤の解明と伝播阻止ワクチンの開発、代表、2018 年度～2019 年度
5. 平成 31 年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、バベシアの赤血球侵入を阻止する新規ナノチューブ遺伝子輸送システムの開発、代表、2018 年度～2019 年度
6. 平成 31 年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、ネズミバベシア原虫：マダニ体内ステージ発育の分子基盤の解明と新規制御法の開発、代表、2018 年度～2020 年度
7. 令和 1 年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、スーダンにおけるマダニ媒介原虫の流行実態の解明と制御対策の構築、代表、2019 年度～2021 年度

8. 令和1年度 挑戦的研究（萌芽）（文部科学省）、トキソプラズマ潜伏により誘導される抗ウイルス応答：原虫とウイルスの攻防を紐解く、代表、2019年度～2021年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

モンゴル国立生命科学大学から名誉教授の称号を授与（2019年6月21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. 藤田 秋一：鹿児島大学獣医学部、トキソプラズマにおけるオートファゴソームの微細構造と構成膜脂質のナノスケールレベルでの分布解析、2019年4月1日～2020年3月31日、平成31年度原虫病研究センター共同研究
2. 井口 愛子：鳥取大学獣医学部、*Babesia gibsoni* におけるアトバコン耐性関連遺伝子ならびに *B. odocoilei* 様原虫の疫学的調査、2019年4月1日～2020年3月31日、平成31年度原虫病研究センター共同研究
3. Ferda SEVINC：トルコ Selcuk 大学獣医学部、トルコにおける家畜バベシア症に対するゲノム疫学調査と実践的制御戦略の確立、2018年10月1日～2022年3月31日、国際共同研究強化(B)（文部科学省）
4. Tawin INPAKAEW：タイ Kasetsart 大学獣医学部、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、2017年4月1日～2020年3月31日、研究拠点形成事業（アジア・アフリカ学術基盤形成型）（日本学術振興会）
5. Dinh Thi Bich LAN：ベトナム Hue 大学獣医学部、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、2017年4月1日～2020年3月31日、研究拠点形成事業（アジア・アフリカ学術基盤形成型）（日本学術振興会）
6. Adrian YBANEZ：フィリピン大学セブ校獣医学部、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、2017年4月1日～2020年3月31日、研究拠点形成事業（アジア・アフリカ学術基盤形成型）（日本学術振興会）
7. Appudurai ARULKANTHAN：スリランカ Peradeniya 大学獣医学部、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、2017年4月1日～2020年3月31日、研究拠点形成事業（アジア・アフリカ学術基盤形成型）（日本学術振興会）

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、多機能性素材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
- ・ 多機能性素材を用いた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. 2019 年度研究の総括

- ・ トキソプラズマは世界で最も一般的な寄生虫症の一つであるトキソプラズマ症を引き起こします。本原虫はその生存に必要なデンスグラニクル抗原を非常に多く分泌します。TgGR7 は、宿主細胞の細胞膜や細胞質、寄生胞膜やその内腔に多く存在します。急性感染期と慢性感染期において、TgGRA7 は抗体産生を強力に刺激します。TgGRA7 は酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) の抗原として利用されてきましたが、イムノクロマトテスト (ICT) への応用はブタでの使用が試されたのみです。今までに TgGRA を搭載した ICT (TgGRA7-ICT) がヒトのトキソプラズマ症に使用されたことはありません。今回、ヒト血清 8 8 検体を用いて TgGRA7-ICT の有効性を評価しました。TgGRA7 を搭載した ELISA、市販の ELISA キット、ラテックス凝集試験 (LAT) で得られた結果を比較し、感度、特異性、一致度から判断して TgGRA7-ICT は標準試験と同等の反応性を示すことが明らかとなりました。TgGRA7-ICT 上に検出されるバンドの濃さは ELISA の結果で得られる抗体レベルの値と性の相関を示しました。今回の結果は、TgGRA7-ICT がヒトのトキソプラズマ症の診断に効果を発揮し、本感染症の定期的な

検査に有効であることが示唆されました。本研究結果の一部は、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 (AMED: JP19fk0108047)の研究助成で実施しました。(論文リスト2)

- ・ トキソプラズマは世界で最も一般的な寄生虫症の一つであるトキソプラズマ症を引き起こします。トキソプラズマの GRA7 タンパク質 (TgGRA7) は寄生胞や寄生胞膜及びシスト壁に必要な構成要素です。TgGRA7 は酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) の抗原として利用されてきましたが、イムノクロマトテスト (ICT) への応用はブタでの使用が試されたのみです。今までに TgGRA を搭載した ICT (TgGRA7-ICT) がネコのトキソプラズマ感染の診断に使用されたことはありません。今回、ネコの血清 100 検体を用いて TgGRA7-ICT の有効性を評価しました。TgGRA7 あるいは原虫ライセートを搭載した ELISA、市販のラテックス凝集試験 (LAT) で得られた結果を比較し、感度、特異性、一致度から判断して TgGRA7-ICT は標準試験と同等の反応性を示すことが明らかとなりました。今回の結果は、TgGRA7-ICT がネコのトキソプラズマ症の診断に効果を発揮し、本感染症の定期的な検査に有効であることが示唆されました。本研究結果の一部は、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 (AMED: JP19fk0108047)の研究助成で実施しました。(論文リスト3)
- ・ ネオスポラ感染により引き起こされる流産や繁殖障害はウシなどの家畜産業に大きな経済的損失を与えます。これまでにネオスポラ感染による流産を調べることのできる血清診断方法は報告されていません。本研究では、各種ネオスポラ抗原のウシの流産に関連する診断への有効性を評価しました。5つの候補抗原 (NcGRA6, NcGRA7, NcGRA14, NcCyP, NcSAG1) を酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) へ搭載し、ネオスポラを実験感染させたマウス及びウシの血清を用いて比較解析を行いました。そこで選択された3つの抗原 (NcSAG1, NcGRA7, and NcGRA6) については、ネオスポラ症発症により流産を起こしたウシ由来の血清を用いて追加の解析を実施し、NcSAG1 と NcGRA7 の診断用抗原としての有効性が確認されました。ネオスポラ症による流産が発症した農家では、流産発生牛における NcSAG1 と NcGRA7 の抗体レベルは優位に高くなっていました。牛妊娠期における特異抗体レベルの変動を追跡したところ、分娩前後における NcSAG1 と NcGRA7 の抗体レベルの急上昇が確認されました。その一方で、子牛の神経症状の有無による NcSAG1 と NcGRA7 の抗体レベルの差は認められませんでした。以上の結果により、NcSAG1 と NcGRA7 はネオスポラ感染によるウシの流産に関与する何らかのマーカ分子であることが推測されました。本研究は J A 土幌町、北海道家畜保健衛生所、South Valley 大学 (エジプト) との共同研究の成果であり、基盤研究 (B) (一般) (日本学術振興会: 15H04589, 18H02335)、JST バリュープログラム (VP29117937665)、伊藤記念財団の研究助成で実施しました。(論文リスト4)
- ・ トキソプラズマ症はトキソプラズマ原虫の感染により引き起こされます。生肉や加熱不十分な食肉を摂取することは、ヒトにおける大きな感染要因となります。モンゴルでは、ヤギやヒツジ由来の肉製品が主に消費されますが、これら小型反芻獣におけるトキソプラズマ感染の疫学

調査は進んでいません。本研究では、トキソプラズマ抗原 TgGRA7 を搭載した酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)によりモンゴルにおけるヤギとヒツジのトキソプラズマ感染を調査しました。ヤギ (首都と 17 県から 1,078 検体) とヒツジ (首都と 21 県から 882 検体) の血清サンプルを解析したところ、トキソプラズマ抗体の陽性率はヤギで 32%、ヒツジで 34.8%でした。ヤギの感染率は西部 (42.7%) と東部 (45.6%) で高く、ヒツジの感染率は東部 (55.4%) で高い結果が得られました。ヤギにおける感染要因は年齢であることが推測されましたが、ヒツジでは年齢や性別は感染要因とはなりません。今回の結果はモンゴルの小型反芻獣においてトキソプラズマの感染が蔓延している可能性を示しており、全国レベルでの感染コントロールの必要性が示唆されました。本研究はモンゴル生命科学大学・獣医学研究所 (モンゴル) との共同研究の成果であり、the Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS) (AMED/JICA : 17jm0110006h0005)、伊藤記念財団の研究助成で実施しました。(論文リスト 5)

- ・ トキソプラズマの感染により引き起こされるトキソプラズマ症は、胎内死亡、流産、網脈絡膜炎、小眼球症、水頭症などの原因となります。現在市販されている抗トキソプラズマ薬は治療効果が限定的であり、重篤な副反応が懸念されます。そのため新規の治療薬開発が必要とされ、今回我々は有望な候補化合物として Metarhizium 属糸状菌から産生されるメタサイトフィリン (MCF) を見出しました。MCF はトキソプラズマの宿主細胞侵入と増殖を阻害し、原虫自体を直接殺傷する効果を有していました (IC50: 1.2 μ M)。MCF の選択毒性は 139.8 であり、既存薬より高値を示しました。構造活性相関により、MCF のメトシキ基およびヒドロキシ基が抗原虫活性に重要であることが示唆されました。MCF の作用機序を解析するためにトキソプラズマ感染細胞を用いた RNAseq 解析を行ったところ、MCF は宿主細胞の遺伝子発現変化には影響せず、原虫の DNA 複製を阻害し RNA 分解を促進していることが示されました。実験マウスでの薬物動態試験を実施したところ、MCF の腹腔内投与および経口投与で、MCF の血中への移行が確認されました。急性期感染モデルでは MCF の腹腔内投与および経口投与でトキソプラズマ感染に対する治療効果を確認できました。そこで MCF の経口投与による妊娠期感染に対する治療効果を検証しました。妊娠マウスへの MCF の投与は催奇形性と胎児毒性は認められず、原虫感染が及ぼす流産あるいは垂直感染を効果的に抑制させることができました。今回の研究結果により MCF がトキソプラズマ感染症に対する新たな治療薬の候補になることが示され、今後の臨床応用的な研究が期待されます。本研究は微生物化学研究所、マヒドン大学・獣医学部 (タイ) との共同研究の成果であり、寿原記念財団、Research Program on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases (AMED : JP19fk0108047)、挑戦的萌芽研究 (日本学術振興会: 26670204)、帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究費 (27-joint-6, 28-joint-3, 29-joint-4) の研究助成で実施しました。(論文リスト 6)
- ・ CC ケモカイン受容体 5 (CCR5) を含むケモカイン系は、細胞の遊走や活性化だけでなく神経機能への作用も近年明らかになりつつあります。トキソプラズマ感染時、CCR5 欠損 (CCR5KO) マウスでは野生型 (WT) と比べ、死亡率や脳内シスト数の増加が報告されています。当研究室

でも、マウス脳組織の網羅的発現解析により、CCR5 とそのリガンド CCL5 の発現が感染に
応答して上昇することを報告しています。本研究では、原虫感染への CCR5 依存的応答の詳細を
調べるため、マウス胎仔脳からアストロサイト、ミクログリア、ニューロンを分化誘導し、原
虫感染後 24 時間で細胞種ごとに RNA-seq を実施しました。さらに、原虫感染マウスの脳組
織を用い、初代脳細胞の解析で見出された CCR5 依存的な感染応答遺伝子の発現、および脳内
原虫数の定量を行いました。RNA-seq では、ニューロンでは他の細胞種に比べその数は少な
かったものの、各細胞種とも免疫関連遺伝子を含む遺伝子群に CCR5 依存的な発現上昇が認めら
れました。これらの遺伝子のほとんどは、脳組織の解析では感染による発現変動はあっても
CCR5 欠損の影響は見られず、脳内原虫数にもマウス系統間で有意差は見られませんでした。
その中で、炎症性タンパク質の一種、血清アミロイド A3 (Saa3) のみ CCR5 依存的な発現上
昇を示しました。これは脳内の炎症が CCR5 の欠損によって一部抑制されたことを示唆してい
ます。また、その他の遺伝子で、初代脳細胞に見られた CCR5 依存的な発現変動が脳組織で見
られなかったことは、脳細胞種同士や末梢からの浸潤細胞の作用により細胞種特異的な反応が
隠蔽されたことを示唆しています。これらは局所的な病態の制御に CCR5 が一定の役割を果た
す可能性を示し、本研究によって原虫感染時の脳における CCR5 の機能の一端が明らかになり
ました。本研究は東京大学大学院新領域創成科学研究科などとの共同研究の成果であり、最先
端・次世代研究開発支援プログラム（日本学術振興会：2011/LS003）、挑戦的萌芽研究（日
本学術振興会：JP15K15118）、挑戦的研究（萌芽）（日本学術振興会：JP17K19538）、若
手研究(B)（日本学術振興会：JP17K17570）、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（AMED、17fk0108120h0001）の研究助成で実施しました。（論文リスト 7）

- ・ 腸内環境は動物の健康に重要な働きをしますが、腸内環境の構成成分の変化は下痢症と関連し
ます。しかしながら、ウシの下痢症を引き起こすクリプトスポリジウム原虫の感染は腸内環境
を変化させるのかについては分かっていません。本研究では、クリプトスポリジウム・パルバ
ム (*Cryptosporidium parvum*) が感染した子牛の腸内細菌叢の変化を解析しました。クリプ
トスポリジウム感染群、ロタウイルス感染群、これら病原体非感染群の糞便サンプルをメタゲ
ノム解析により比較したところ、フソバクテリウム属細菌の割合がクリプトスポリジウム感染
により増加することが示されました。さらに、クリプトスポリジウムとフソバクテリウム属細
菌が共存することにより、下痢症状が悪化していました。地理的に離れている場所（北海道、
岩手、沖縄）からのサンプルを解析しても、フソバクテリウム属細菌とクリプトスポリジウム
感染の相関性が認められました。今回の結果により、腸内細菌叢内のフソバクテリウム属細
菌の増加はクリプトスポリジウム症の悪化要因になることが示唆されました。本研究は岩手大
学農学部、大阪大学微生物病研究所などとの共同研究の成果であり、帯広畜産大学原虫病研究
センター共同研究費（27-joint-2, 28-joint-6）、大阪大学微生物病研究所共同研究費の研究助
成で実施しました。（論文リスト 8）
- ・ 天然生物資源は感染症に対する様々な治療薬の源になっており、その中でも放線菌は土壌や海
に存在しています。本研究ではモンゴルの土壌サンプルから分離された 4 種類の放線菌を用い

て、抗原虫活性の解析を行いました。その中で、*Streptomyces canus* N25 株の粗抽出サンプルに抗トキソプラズマ活性と抗マラリア活性があることが明らかとなりました。高分解能 LC/MS を用いた解析により活性画分から phenazine-1-carboxylic acid (PCA) を同定し、トキソプラズマ (IC₅₀: 55.5 µg/ml) および熱帯熱マラリア原虫 (IC₅₀: 6.4 µg/ml) に対する増殖阻害効果を確認しました。本研究により、モンゴルでの土壌放線菌は抗原虫薬の有望な生物資源であることが示唆され、PCA の今後の詳細な解析が期待されます。本研究は微生物化学研究所との共同研究の成果であり、寿原記念財団の研究助成で実施しました。(論文リスト 9)

- ・ トキソプラズマの慢性感染は宿主の中樞神経系を障害し、さまざまな行動の変化を引き起こします。我々は最近、Toll-like receptor 2 (TLR2)が急性期の神経炎症の誘導に重要であることを報告しましたが、慢性期の脳病態への関与は依然不明です。そこで本研究では、野生型(WT)および TLR2 欠損(TLR2KO)マウスを用いて、トキソプラズマ感染によるマウスの脳病態や行動への影響を比較することで、慢性期における TLR2 の役割を明らかとすることを目的としました。WT および TLR2KO マウスに非感染群、トキソプラズマ(PLK 株)感染群を設定し、感染群における病理組織学的な病変、脳内原虫量、および脳組織中の炎症性サイトカイン類の遺伝子発現量を比較しました。次に、感染30日後からマウスの行動を評価する3種の行動実験を実施しました。病理学的な解析の結果、慢性期における脳組織の病変は WT と TLR2KO 間で同程度に観察されましたが、感染30日後の脳内原虫量は TLR2KO マウスで有意に増加していました。また、炎症性サイトカイン類(インターロイキン 12p40、iNOS など)の発現量に差は認められませんでした。行動実験の結果、非感染群間の比較では TLR2 の欠損により、不安の増強と恐怖記憶の亢進が示されました。一方、感染群間では TLR2KO マウスにおいて、感染による恐怖記憶障害の部分的な回復が認められました。以上のことから、TLR2 は慢性期の脳内の炎症レベルや組織障害への関与は少ないが、原虫数を抑制する働きを持つことが示されました。また、トキソプラズマ感染による宿主の恐怖記憶障害は部分的に TLR2 依存的な応答によることが示唆されました。慢性的な神経炎症は核内因子 κB 経路を活性化させ、恐怖記憶を阻害することから、トキソプラズマ感染による慢性期の神経障害に TLR2 が一定の役割を担っていることが考えられました。本研究は最先端・次世代研究開発支援プログラム(日本学術振興会:2011/LS003)、挑戦的萌芽研究(日本学術振興会:JP15K15118)、挑戦的研究(萌芽)(日本学術振興会:JP17K19538)、スタートアップ(日本学術振興会:24880006)、若手研究(日本学術振興会:15J03171, 18K14577, JP17K17570)、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(AMED、17fk0108120h0001)の研究助成で実施しました。の研究助成で実施しました。(論文リスト 10)
- ・ ラクダに感染する寄生虫の多様性についてはほとんど分かっていないのが現状で、一般的には形態学的な解析がなされています。今回、エジプトのヒトコブラクダ由来の心臓組織と糞便から DNA を抽出し、寄生虫の検査を行いました。PCR 検査の結果、*Toxoplasma gondii* (1.1%)、*Sarcocystis* spp. (64.4%)、*Cryptosporidium* spp. (5.9%)、Trichostrongylidae nematodes

(22.7%)の感染が確認されました。線虫の中では、*Haemonchus* spp. (95.6%)、*Trichostrongylus axei* (26%)、*Trichostrongylus colubriformis* (65.2%)、*Cooperia oncophora* (60.8%)の感染が認められました。今回の結果により、ヒトコブラクダには様々な種類の寄生虫が感染していることが明らかになりました。本研究は Mansoura 大学獣医学部（エジプト）との共同研究の成果です。（論文リスト 11）

- ・ トキソプラズマの感染は世界中に広がっていますが、フィリピンでの感染の実態は分かっていません。今回、フィリピン・セブ島におけるトキソプラズマ感染の血清疫学調査を行いました。ヒト、ネコ、ブタを対象に疫学調査を実施し、トキソプラズマの感染実態を明らかにしました（抗体陽性率：ヒト（26.3%）、ネコ（42.3%）、ブタ（13.4%））。ヒトへの感染リスク要因として、ネコとの接触、豚肉など屋台の食べ物の摂食が推測されました。今回の結果はフィリピンにおけるトキソプラズマ感染のリスクを示しており、今後の公衆衛生的なコントロールの必要性が示されました。本研究はフィリピン大学・セブ校、セブ工科大学、Visayas 大学との共同研究の成果であり、寿原記念財団の研究助成で実施しました。（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
- ・ 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 162 回日本獣医学会学術集会・日本獣医寄生虫学会・寄生虫分科会シンポジウム「獣医寄生虫学における研究開発の最前線（The Cutting Edge of R&D in Veterinary Parasitology）」（2019年9月10日、つくば国際会議場）

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
- ・ The Journal of Protozoology Research 編集委員長
- ・ The Korean Journal of Parasitology, a member of Editorial Board

6. 2019 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. Mio Maeta, Naoya Miura, Hiroki Tanaka, Takashi Nakamura, Ryo Kawanishi, **Yoshifumi Nishikawa**, Kenichi Asano, Masato Tanaka, Shinya Tamagawa, Yuta Nakai, Kota Tange, Hiroki Yoshioka, Hideyoshi Harashima, Hidetaka Akita. Vitamin E Scaffolds of pH-Responsive Lipid Nanoparticles as DNA Vaccines in Cancer and Protozoan

- Infection. **Molecular Pharmaceutics**. 2020; 17(4): 1237-1247. PMID: 32129629
2. Rochelle Haidee D Ybañez, Yoshifumi Nishikawa*. Serological detection of *T. gondii* infection in humans using an immunochromatographic assay based on dense granule protein 7. **Parasitology International**. 2020; 76: 102089. PMID: 32092466
 3. Rochelle Haidee D Ybanez, Hisako Kyan, Yoshifumi Nishikawa*. Detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in cats using an immunochromatographic test based on GRA7 antigen. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82: 441-445. PMID: 32037381
 4. Hanan H Abdelbaky, Maki Nishimura, Naomi Shimoda, Jun Hiasa, Ragab M Fereig, Hiromi Tokimitsu, Hisashi Inokuma, Yoshifumi Nishikawa*. Evaluation of *Neospora caninum* serodiagnostic antigens for bovine neosporosis. **Parasitology International**. 2020; 75: 102045. PMID: 31881363
 5. Baldorj Pagmadulam, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Naoaki Yokoyama, Badgar Battsetseg, Yoshifumi Nishikawa*. Seroepidemiological study of *Toxoplasma gondii* in small ruminants (sheep and goat) in different provinces of Mongolia. **Parasitology International**. 2020; 74: 101996. PMID: 31634631.
 6. Arpron Leesombun, Masatomi Iijima, Kousuke Umeda, Daisuke Kondoh, Baldorj Pagmadulam, Ahmed M Abdou, Yutaka Suzuki, Shun-ichi Ohba, Kunio Isshiki, Tomoyuki Kimura, Yumiko Kubota, Ryuichi Sawa, Coh-ichi Nihei, Yoshifumi Nishikawa*. Metacytofilin is a potent therapeutic drug candidate for toxoplasmosis. **The Journal of Infectious Diseases**. 2020; 221: 766-774. PMID: 31573038
 7. Kaoru Kobayashi, Kousuke Umeda, Fumiaki Ihara, Sachi Tanaka, Junya Yamagishi, Yutaka Suzuki, Yoshifumi Nishikawa*. Transcriptome analysis of the effect of C-C chemokine receptor 5 deficiency on cell response to *Toxoplasma gondii* in brain cells. **BMC Genomics**. 2019; 20: 705. PMID: 31506064
 8. Madoka Ichikawa-Seki, Daisuke Motooka, Aiko Kinami, Fumi Murakoshi, Yoko Takahashi, Junya Aita, Kei Hayashi, Atsushi Tashibu, Shota Nakamura, Tetsuya Iida, Toshihiro Horii, Yoshifumi Nishikawa*. Specific increase of Fusobacterium in the faecal microbiota of neonatal calves infected with *Cryptosporidium parvum*. **Scientific Reports**. 2019; 9: 12517. PMID: 31467354
 9. Baldorj Pagmadulam, Dugarsuren Tserendulam, Tserennadmid Rentsenkhand, Masayuki Igarashi, Ryuichi Sawa, Coh-ichi Nihei, Yoshifumi Nishikawa*. Isolation and characterization of antiprotozoal compound-producing *Streptomyces* species from Mongolian soils. **Parasitology International**. 2019; 74: 101961. PMID: 31437553
 10. Fumiaki Ihara, Sachi Tanaka, Ragab M Fereig, Maki Nishimura, Yoshifumi Nishikawa*. Involvement of Toll-like receptor 2 in the cerebral immune response and behavioral changes caused by latent *Toxoplasma* infection in mice. **PLoS One**. 2019; 14: e0220560. PMID: 31404078

11. El-Sayed El-Alfy, Salah Abu-Elwafa, Ibrahim Abbas, Moustafa Al-Araby, Yara Al-Kappany, Kousuke Umeda, **Yoshifumi Nishikawa***. Molecular screening approach to identify protozoan and trichostrongylid parasites infecting one-humped camels (*Camelus dromedarius*). **Acta Tropica**. 2019: 105060. PMID: 31194962
12. Rochelle Haidee D Ybañez, Chadinne Giralani R Busmeon, Alexa Renee G Viernes, Jorim Z Langbid, Johanne P Nuevarez, Adrian P Ybañez, **Yoshifumi Nishikawa***. Endemicity of *Toxoplasma* infection and its associated risk factors in Cebu, Philippines. **PLoS One**. 2019; 14: e0217989. PMID: 31188858

総説（*責任著者）

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、令和元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、2019年8月3日
2. 寄生虫の観察の体験実習、令和元年度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、2019年12月1日

8. 招待講演等

1. Development of diagnosis, prophylactic, and treatment methods for protozoan diseases to improve productivity of livestock in Mongolia、特別セミナー、モンゴル生命科学大学・獣医学部、2019年10月10日

9. 獲得研究費

1. 平成30年度 基盤研究B（一般）（文部科学省）、家畜病原性原虫ネオスポラの感染による流産発症機構の解明（18H02335）、代表、平成30年度～令和2年度
2. 令和元年度外国人再招聘研究者の受け入れ（日本学術振興会）、代表、2019年度
3. 平成31年度 第1回 科学研究費助成事業（特別研究員奨励費）（外国人特別研究員）（文部科学省）、牛クリプトスポリジウム症の診断に適応可能な迅速イムノクロマト法の開発（19F19107）、代表、2019年度～2020年度
4. 2019年度 研究拠点形成費等補助金（卓越大学院プログラム事業費）「One Health フロンティア卓越大学院」に関するトライアル（予行演習・予備試験）等の実施（北海道大学）、分担、2019年度
5. 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～令和元年度

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：Ragab FERIEG（指導若手研究者）

受賞名：第10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：Development of potent and safe vaccine candidates against *Neospora caninum* infection

受賞年：2019年9月10日

12. 報道等

1. 十勝毎日新聞（2019年10月9日）トキソプラズマ治療薬候補を発見 帯畜大の西川教授ら
2. 北海道新聞（2019年10月16日）妊婦感染症に有効物質
3. 財経新聞（2018年10月8日）トキソプラズマを駆逐する新たな化合物を発見 帯広畜産大などの研究 <https://news.nifty.com/article/technology/techall/12214-534248/>

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. 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～2020年3月31日、共同研究契約
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. 朴 龍洙：静岡大学・グリーン科学技術研究所、高免疫応答型多価ウイルス粒子を用いた原虫感染症治療用ワクチン開発基盤技術の構築、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究
7. 二瓶 浩一：（公財）微生物化学研究会・微生物化学研究所、新規抗アピコンプレクサ類原虫剤DKP誘導体の実用化、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター

ー共同研究

8. 渡慶次 学：北海道大学大学院工学研究院応用化学部門、抗トキソプラズマ薬を脳内に送達するためのドラッグデリバリーシステムの開発、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究
9. 関 まどか：岩手大学農学部共同獣医学科、クリプトスポリジウム症に対する初乳中の抗体による予防効果の検討、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究

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、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や非流行地居住者の流行地への旅行の際の予防的利用が期待されます。臨床応用へ向けての研究成果が期待されます(総説1)。

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。

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。

また、マウスの初期発生における卵割時間と発生能との関係をタイムラプスシネマトグラフィ

ーを用いて検討するとともに、ゲノム編集技術を用いた大型動物の遺伝子改変にも取り組んでおります。ウシの体外受精卵を用いてバベシア原虫受容体をゲノム編集技術によって欠損させ、バベシア耐性ウシの樹立を目指しています。

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. 2019 年度研究の総括

- ・ 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。昨年、ビタミン E の誘導体であるコハク酸トコフェロールの効果の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たことを報告しましたが、この一連の研究のなかで、ある種の植物性の油には抗原虫効果を有する物があることを見出しました（論文 1）。植物油は化合物を投与する際の溶媒として汎用されているので、実験の精度を維持するためには留意が必要と考えます。

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（広報担当）
- ・ 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
- ・ マラヤ大学（マレーシア） 学位論文審査外部審査委員

6. 2019 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. Aiko Kume, Keisuke Suganuma, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki. Effect of vegetable oils on the experimental infection of mice with Trypanosom congolense. **Experimental Parasitology**. 2020; 210: 107845. PMID: 32004533
2. Shinji Harakawa, Takuya Hori, Takaki Nedachi, Hiroshi Suzuki. Gender and Age Differences in the Suppressive Effect of a 50 Hz Electric Field on the Immobilization-Induced Increase of Plasma Glucocorticoid in Mice. **Bioelectromagnetics**. 2020; 41(2): 156-163. PMID: 31833072
3. Aaron E Ringo, Gabriel O Aboge, Paul F Adjou Moumouni, Seung Hun Lee, Charoonluk Jirapattharasate, Mingming Liu, Yang Gao, Huanping Guo, Weiqing Zheng, Artemis Efstratiou, Eloiza M Galon, Jixu Li, Oriel Thekiso, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan. Molecular detection and genetic characterisation of pathogenic *Theileria*, *Anaplasma* and *Ehrlichia* species among apparently healthy sheep in central and western Kenya. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. 2019; 86(1): e1-e8. PMID: 31291731
4. Rika Umemiya-Shirafuji, Ryo Mihara, Kozo Fujisaki, Hiroshi Suzuki. Intracellular localization of vitellogenin receptor mRNA and protein during oogenesis of a parthenogenetic tick, *Haemaphysalis longicornis*. **Parasites & Vectors**. 2019; 12(1): 205. PMID: 31060579
5. Huanping Guo, Paul Franck Adjou Moumouni, Oriel Thekiso, Yang Gao, Mingming Liu, Jixu Li, Eloiza May Galon, Artemis Efstratiou, Guanbo Wang, Charoonluk Jirapattharasate, Aaron Edmond Ringo, Khethiwe Mtshali, Noboru Inoue, Hiroshi Suzuki, XuenanXuan. Genetic characterization of tick-borne pathogens in ticks infesting cattle and sheep from three South African provinces. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2019; 10(4): 875-882. PMID: 31010732
6. Mototada Shichiri, Noriko Ishida, Yoshihisa Hagihara, Yasukazu Yoshida, Aiko Kume, Hiroshi Suzuki. Probucol induces the generation of lipid peroxidation products in erythrocytes and plasma of male cynomolgus macaques. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**. 2019; 64(2): 129-142. PMID: 30936625

総説

1. **Hiroshi Suzuki***, Aiko Kume and Maria Shirely Herbas. Potential of Vitamin E Deficiency, Induced by Inhibition of α -Tocopherol Efflux, in Murine Malaria Infection. **International Journal of Molecular Sciences**. 2019; 20: 64. PMID: 30586912

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. 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
2. 平成31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。

さらに、2017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

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

3. 2019年度研究の総括

- ・ マダニが媒介する病原体の中には、雌ダニから次世代の卵、幼ダニへと移行するものがあり（介卵伝播）、その代表的な原虫にバベシアが挙げられます。例えばバベシア感染動物で雌ダニが吸血すると、バベシア感染幼ダニの発生に繋がります。これらの幼ダニは次の宿主動物に対する感染源となります。しかし、マダニにおいてバベシアの介卵伝播がどのようにして成立しているのか、分子機構はまだ明らかにされていません。マダニにおけるバベシア介卵伝播メカニズムの解明のためには、マダニ卵母細胞の発育過程（卵形成）を理解することが重要です。そこで、卵母細胞の発育に必要な不可欠の卵黄タンパク質前駆体（ビテロジェニン；Vg）に着目し、その受容体（VgR）の卵母細胞における mRNA 発現およびタンパク質の局在を解析しました。その結果、ステージ I～III 卵母細胞の細胞質内に VgR mRNA が検出され、また、VgR タンパク質はステージ I～III の細胞質内およびステージ IV、V の細胞質辺縁に局在することが明らかになりました。次に、RNA 干渉法により VgR 発現抑制雌ダニを作出し、その卵巣（飽血後 4 日目）を観察したところ、対照群と異なり、ステージ IV および V の卵母細胞が観察されませんでした。

した。以上のことから、フタトゲチマダニ単為生殖系の卵母細胞における VgR の発現と局在は、発育ステージにより異なるパターンを示すことが判明しました。また、卵母細胞は、急速吸血期にステージ I から II、飽血後にステージ II から III へと発育し、その後、VgR を介した Vg 取り込みが活発化することによりステージ III から IV へと移行し成熟することが明らかになりました。これらの知見は、マダニの卵形成およびバベシアの介卵伝播を分子・細胞レベルで理解する上での重要な基礎情報となります（論文リスト 5）。

- ・ マダニコロニーの維持管理および原虫感染マダニの作出は、マダニにおける原虫媒介機構の解明やワクチン候補分子の探索等において、極めて重要です。国外では、医学・獣医学上重要なマダニ種の遺伝子情報やセルバンクが公開されており、世界中の研究者にとって必要不可欠のツールとなっていますが、国内ではそのような体制は十分ではありません。原虫病研究センターでは、国内最重要マダニ種であるフタトゲチマダニを累代飼育しており、国内外の研究機関・民間企業等に供給し、研究・試験に活用されてきました。現在、フタトゲチマダニ以外のマダニ種の実験室順化を進めており、マダニの飼育および供給体制のさらなる拡充を目指しています。マダニのゲノム・トランスクリプトームなどのオミクス解析の国内外の現状、研究資源としてのマダニコロニーの重要性ならびに国内におけるマダニ研究の展望について、総説として発表しました（総説 1）。また、「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、野外採集マダニにおけるダニ媒介性脳炎ウイルスの検出を実施しました（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
- ・ 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

- ・ 第 70 回日本衛生動物学会大会、平成 30 年 5 月 11 日～13 日、事務局

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2019 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（#Equally contributed authors; * 責任著者）

1. Emmanuel Pacia Hernandez, Kei Shimazaki, Hiroko Niihara, Rika Umemiya-

- Shirafuji**, Kozo Fujisaki, Tetsuya Tanaka. Expression analysis of glutathione S-transferases and ferritins during the embryogenesis of the tick *Haemaphysalis longicornis*. **Heliyon**. 2020; 6(3): e03644. PMID: 32258487
2. Aiko Kume, Keisuke Sukanuma, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Hiroshi Suzuki. Effect of vegetable oils on the experimental infection of mice with *Trypanosoma congolense*. **Experimental Parasitology**. 2020; 210:107845. PMID: 32004533
 3. Thu-Thuy Nguyen, Minh-Anh Dang-Trinh, Luna Higuchi, Juan Mosqueda, Hassan Hakimi, Masahito Asada, Junya Yamagishi, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Shin-ichiro Kawazu. Initiated *Babesia ovata* sexual stages under *in vitro* conditions were recognized by anti-CCp2 antibodies, showing changes in the DNA content by imaging flow cytometry. **Pathogens**. 2019; 8: 104. PMID: 31319568.
 4. Dulamjav Jamsransuren, Kentaro Yoshii, Hiroaki Kariwa, Mitsuhiko Asakawa, Kei Okuda, Kei Fujii, Shinya Fukumoto, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Motoki Sasaki, Kotaro Matsumoto, Emi Yamaguchi, Haruko Ogawa, Kunitoshi Imai. Epidemiological survey of tick-borne encephalitis virus infection in wild animals on Hokkaido and Honshu islands, Japan. **Japanese Journal of Veterinary Research**. 2019; 67: 163-172. <http://doi.org/10.14943/jjvr.67.2.163>
 5. **Rika Umemiya-Shirafuji***, Ryo Mihara, Kozo Fujisaki, Hiroshi Suzuki. Intracellular localization of vitellogenin receptor mRNA and protein during oogenesis of a parthenogenetic tick, *Haemaphysalis longicornis*. **Parasites & Vectors**. 2019; 12: 205. PMID: 31060579.
 6. Seung-Hun Lee, Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Patrick Vudriko, Mingming Liu, Byamukama Benedicto, Maria Agnes Tumwebaze, Damdinsuren Boldbaatar, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Shinya Fukumoto, Xuenan Xuan. Differential diagnosis and molecular characterization of *Theileria spp.* in sika deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido, Japan. **Parasitology International**. 2019, 70:23-6. PMID: 30664981.

総説

1. **Rika Umemiya-Shirafuji***, Kozo Fujisaki, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Naoaki Yokoyama, Hiroshi Suzuki, Noboru Inoue, Xuenan Xuan. Hard ticks as research resources for vector biology: from genome to whole-body level. **Medical Entomology and Zoology**. 2019; 70(4): 181-188. <https://doi.org/10.7601/mez.70.181>

著書

該当なし

特別寄稿文

1. 白藤（梅宮） 梨可*. 原虫介卵伝播メカニズムの解明に向けたマダニ卵形成の基礎的研究. 衛生動物 70 (3): 2019; 137-140.

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 31 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、2019 年 8 月 3 日
2. 寄生虫観察の体験講座、第 9 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、2019 年 12 月 1 日

8. 招待講演等

1. 第 71 回日本衛生動物学会大会・シンポジウム、「マダニにおける原虫の介卵伝播メカニズム」、山口大学吉田キャンパス（山口県山口市）、2019 年 4 月 20 日

9. 獲得研究費

1. 平成 31 年度 基盤研究 (C) (文部科学省)、バベシア原虫の介卵伝播におけるマダニ卵形成関連分子と原虫の分子間相互作用の解明 (19K06416)、代表、平成 31 年度～令和 3 年度
2. 公益財団法人天下財団 2019 年度研究助成、病原体伝播におけるマダニ卵黄タンパク質前駆体の機能解明、代表、平成 31 年度
3. 平成 30 年度 基盤研究 (B) (一般) (文部科学省)、マダニ体内におけるバベシア原虫発育の分子基盤の解明と伝播阻止ワクチンの開発 (18H02336)、分担、平成 30 年度～令和 3 年度
4. 平成 31 年度 基盤研究 (B) (一般) (文部科学省)、バベシアのマダニ体内発育ステージ抗原の網羅的解析：伝播阻止ワクチン開発の基盤整備 (19H03120)、分担、平成 31 年度～令和 3 年度
5. 平成 31 年度 国際共同研究加速基金(国際共同研究強化(B)) (文部科学省)、新たに発見された病原性牛バベシアに対する国際防疫体制強化に向けた基盤研究、分担、平成 31 年度～令和 3 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. DeMar Taylor : Identification, Characterization and Functional Analysis of the Vitellogenin Receptor in the soft tick *Ornithodoros moubata*、2019年4月1日～2020年3月31日、2019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、フタトゲチマダニの胚発生における抗酸化分子の発現プロファイルの作成、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究
3. Haiyan Gong : Shanghai Veterinary Research Institute、Microbiome comparasion of the tick *Haemaphysalis longicornis* from the labs of China and Japan、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究

1. 研究テーマの概要

マダニによって媒介されるピロプラズマ（タイレリアおよびバベシア）病は、牛や馬などの家畜動物に発熱や貧血などの消耗性疾患を引き起こし、世界中で深刻な経済的被害をもたらしています。しかしながら、いずれのピロプラズマ病に対しても有効な対応策が確立されていません。当研究室は、2007年より国際獣疫事務局（OIE）から、牛バベシア病と馬ピロプラズマ病に関するOIE リファレンスラボラトリーの認定を受けています。特に、動物ピロプラズマ病のリスク評価に主眼を置いて、具体的な疾病制御に向けた対応策ガイドラインの作成を目指しています。また、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、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

- ・ 牛及び馬のピロプラズマ病に関する国際疫学調査
- ・ 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
- ・ 牛ピロプラズマの媒介マダニに関する疫学研究
- ・ 牛及び馬ピロプラズマ病の診断法、治療薬、及び予防ワクチンの開発に関する基礎研究

3. 2019年度研究の総括

- ・ 熱帯タイレリア (*Theileria annulata*) と近縁の新たな牛タイレリアの発見: *Theileria annulata* は、牛の熱帯タイレリアとして知られ、我が国では家畜法定伝染病の原因に指定されている高病原性の住血性原虫です。過去に *T. annulata* PCR 陽性であったスリランカのウシ血液 DNA サンプルから牛タイレリアの *tams1* 遺伝子、*tasp* 遺伝子、*18S rRNA*、及び *cob* 遺伝子を解析した結果、すべての遺伝子群から *T. annulata* と同一性が低い配列が得られました。系統解析でも、スリランカ由来の上記の遺伝子配列は共に同じクラスターを形成し、既知の *T. annulata* 及び *Theileria lestoquardi* の共通の祖先から姉妹クレードを形成していることも示されました。これらの成果より、スリランカで蔓延している牛タイレリアは *T. annulata* ではなく、*T. annulata* と近縁の新たな牛タイレリア種 (*Theileria* sp. Yokoyama と命名) であることが明らかとなりました。本論文は、スリランカ・獣医学研究所との国際共同研究の成果です (論文リスト 6)。
- ・ 臨床症状を引き起こす新たな牛バベシア種 (*Babesia* sp. Mymensingh) の国際分布と感染宿主の解明：昨年度スリランカにて、牛に臨床症状 (貧血、発熱、血色素尿など) を誘起する新たな病原性バベシア (*Babesia* sp. Mymensingh) を発見したことを報告しました。その後の本研究では、スリランカ (牛と水牛)、フィリピン (牛)、ベトナム (牛、水牛、羊、及び山

羊)、モンゴル(牛)、ウガンダ(牛)、ブラジル(牛)、及びアルゼンチン(牛)の血液サンプルを用いて、*Babesia* sp. Mymensingh に対する PCR スクリーニング解析を行いました。その結果、ブラジル以外のすべての国から *Babesia* sp. Mymensingh が検出され、*Babesia* sp. Mymensingh はアジア、アフリカ、及び南米に広く分布していることが明らかになりました。また、牛、水牛、羊、及び山羊から検出され、*Babesia* sp. Mymensingh の宿主域の広さも示されました。本論文は、スリランカ・獣医学研究所、フィリピン・セブ工科大学、ベトナム・フエ大学、モンゴル・獣医学研究所、ウガンダ・マケレレ大学、ブラジル・バイア獣医協議会、及びアルゼンチン・農業技術研究所との国際共同研究の成果です(論文リスト 1、2)。

- ・ モンゴル国のピロプラズマとアナプラズマの疫学調査:モンゴルにおける牛バベシア(*Babesia bovis* と *Babesia bigemina*)、馬ピロプラズマ(*Theileria equi* と *Babesia caballi*)、及び小反芻獣アナプラズマ(*Anaplasma ovis*)の感染状況を、検出用 PCR と血清診断用 ELISA を用いて調査しました。その結果、*B. bovis* (PCR : 27.9%)、*B. bigemina* (PCR : 23.6%)、*T. equi* (ELISA : 33.0%)、*B. caballi* (ELISA : 14.2%)、*A. ovis* (PCR : 69.0% (羊)、71.3% (山羊))と高い感染率を示し、モンゴルにおけるそれぞれ病原体の汚染実態が明らかとなりました。本論文は、モンゴル・獣医学研究所との国際共同研究の成果です(論文リスト 1、9、21)。
- ・ スリランカ国のピロプラズマとアナプラズマの疫学調査:スリランカにおける牛バベシア(*Babesia bovis* と *Babesia bigemina*)、牛タイレリア(*Theileria annulata* と *Theileria orientalis*)、牛トリパノソーマ(*Trypanosoma theileri*)、及び牛アナプラズマ(*Anaplasma marginale*)の感染状況を、それぞれの検出用 PCR を用いて調査しました。その結果、*B. bovis* 以外の、*B. bigemina* (19.0%)、*T. annulata* (1.6%)、*T. orientalis* (100.0%)、*Tr. theileri* (20.6%)、及び *A. marginale* (32.7% (牛) と 57.5% (水牛))で高い感染率を示し、スリランカにおけるそれぞれ病原体の汚染実態が明らかとなりました。本論文は、スリランカ・獣医学研究所との国際共同研究の成果です(論文リスト 8、18)。

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

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 国際獣医事務局 (OIE) リファレンスラボラトリー「牛バベシア病、馬ピロプラズマ病」専門家
- ・ OIE コラボレーティングセンター「動物原虫病のサーベイランスと防疫」代表者
- ・ 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 (東京大学) 委員
- ・ 北海道大学卓越大学院・One Health Ally Course 運営委員会 委員
- ・ モンゴル国獣医・畜産分野人材育成能力強化プロジェクト国内支援委員会 (北海道大学) 委員
- ・ プラズマ・核融合学会・「プラズマによる生体電荷制御の科学」専門委員会 委員

6. 2019 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. Davaajav Otgonsuren, Thillaiampalam Sivakumar, Tovuu Amgalanbaatar, Batsaikhan Enkhtaivan, Sandagdorj Narantsatsral, Bumduuren Tuvshintulga, Myagmar Zoljargal, Dalantai Munkhgerel, Batbold Davkharbayar, Purevdorj Baatarjargal, Batdorj Davaasuren, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Badgar Battsetsegb Banzragch Battur, **Naoaki Yokoyama***. Molecular epidemiological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Babesia* sp. Mymensingh infections in Mongolian cattle. **Parasitology International**. 2020; 77: 102107. PMID: 32205192
2. Thillaiampalam Sivakumar, Bumduuren Tuvshintulga, Hemal Kothalawala, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Dinh Thi Bich Lan, Phung Thang Long, Adrian Patalinghug Ybañez, Rochelle Haidee Daclan Ybañez, Daniel Francisco Benitez, Dickson Stuart Tayebwa, Alan Caine Costa DE Macedo, Leonhard Schnittger, **Naoaki Yokoyama***. Host range and geographical distribution of *Babesia* sp. Mymensingh. **Transboundary and Emerging Diseases**. 2020; doi: 10.1111/tbed.13546. PMID: 32166838
3. Amany Magdy Beshbishy Gaber El-Saber Batiha Luay Alkazmi Eman Nadwa, Eman Rashwan, Ahmed Abdeen, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*. Therapeutic Effects of Atranorin towards the Proliferation of *Babesia* and *Theileria* Parasites. **Pathogens**. 2020; 9(2): 127. PMID: 32079149
4. Gaber El-Saber Batiha, Amany Magdy Beshbishy, Oluyomi Stephen Adeyemi, Eman Nadwa, Eman Rashwan, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*. Safety and efficacy of hydroxyurea and eflornithine against most blood parasites *Babesia* and *Theileria*. **PLoS One**. 2020; 15(2): e0228996. PMID: 32053698
5. Yongchang Li, Mingming Liu, Mohamed Abdo Rizk, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Eloiza May Galon, Huanping Guo, Yang Gao, Jixu Li, Amani Magdy Beshbishy, Arifin Budiman Nugraha, Shengwei Ji, Maria Agnes Tumwebaze, Byamukama Benedicto, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan*. Drug screening of food and drug administration-approved compounds against *Babesia bovis* in

- vitro*. **Experimental Parasitology**. 2020; 210: 107831. PMID: 31926147
6. Thillaiampalam Sivakumar, Shiori Fujita, Bumduuren Tuvshintulga, Hemal Kothalawala, Seekkuge Susil Priyantha Silva, **Naoaki Yokoyama***. Discovery of a new *Theileria* sp. closely related to *Theileria anulata* in cattle from Sri Lanka. **Scientific Reports**. 2019; 9(1): 16132. PMID: 31695080
 7. Baldorj Pagmadulam, Punsantsogvoo Myagmarsuren, **Naoaki Yokoyama**, Badgar Battsetseg, Yoshifumi Nishikawa*. Seroepidemiological study of *Toxoplasma gondii* in small ruminants (sheep and goat) in different provinces of Mongolia. **Parasitology International**. 2020; 74: 101996. PMID: 31634631
 8. Atambekova Zhyldyz, Thillaiampalam Sivakumar, Ikuo Igarashi, Erandi Gunasekara, Hemal Kothalawala, Seekkuge Susil Priyantha Silva, **Naoaki Yokoyama***. Epidemiological survey of *Anaplasma marginale* in cattle and buffalo in Sri Lanka. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2019; 81(11): 1601-1605. PMID: 31548475
 9. Punsantsogvoo Myagmarsuren, Thillaiampalam Sivakumar, Batsaikhan Enkhtaivan, Batdorj Davaasuren, Myagmar Zoljargal, Sandagdorj Narantsatsral, Batbold Davkharbayar, Bayasgalan Mungun-Ochir, Banzragch Battur, Noboru Inoue, Ikuo Igarashi, Badgar Battsetseg, **Naoaki Yokoyama***. A Seroepidemiological Survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses in Mongolia. **The Journal of Parasitology**. 2019; 105(4): 580-586. PMID: 31414947
 10. Gaber El-Saber Batiha, Amani Magdy Beshbishy, Dickson Stuart Tayebwa, Oluyomi Stephen Adeyemi, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Evaluation of the inhibitory effect of ivermectin on the growth of *Babesia* and *Theileria* parasites *in vitro* and *in vivo*. **Tropical Medicine and Health**. 2019; 47: 42. PMID: 31337949
 11. Mst Ishrat Zerine Moni, Kei Hayashi, Thillaiampalam Sivakumar, Moizur Rahman, Lovely Nahar, Md Zakirul Islam, **Naoaki Yokoyama**, Katsuya Kitoh, Cornelia Appiah-Kwarteng, Yasuhiro Takashima*. First molecular detection of *Theileria annulata* in Bangladesh. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2019; 81(8): 1197-1200. PMID: 31292335
 12. Arifin Budiman Nugraha, Bumduuren Tuvshintulga, Azirwan Guswanto, Dickson Stuart Tayebwa, Mohamed Abdo Rizk, Sambuu Gantuya, GaberEl-Saber Batiha, Amany Magdy Beshbishy, Thillaiampalam Sivakumar, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*. Screening the Medicines for Malaria Venture Pathogen Box against piroplasm parasites. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. 2019; 10: 84-90. PMID: 31254719
 13. Amani Magdy Beshbishy, Gaber El-Saber Batiha, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*, Ellagic acid microspheres restrict the growth of *Babesia* and *Theileria* *in vitro* and *Babesia microti* *in vivo*. **Parasites & Vectors**. 2019; 12(1): 269. PMID: 31138282
 14. Gaber El-Saber Batiha, Amany Magdy Beshbishy, Dickson Stuart Tayebwa, Oluyomi

- Stephen Adeyemi, Hazem Shaheen, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi*. The effects of trans-chalcone and chalcone 4 hydrate on the growth of *Babesia* and *Theileria*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 2019; 13(5): e0007030. PMID: 31125333
15. Gaber El-Saber Batiha, Amany Magdy Beshbishy, Dickson Stuart Tayebwa, Hazem Mohammed Shaheen, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi*. Inhibitory effects of *Syzygium aromaticum* and *Camellia sinensis* methanolic extracts on the growth of *Babesia* and *Theileria* parasites. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2019; 10(5): 949-958. PMID: 31101552
 16. Bayasgalan Mungun-Ochir, Noriyuki Horiuchi, Adilbish Altanchimeg, Kenji Koyama, Keisuke Suganuma, Uranbileg Nyamdolgor, Ken-ichi Watanabe, Purevdorj Baatarjargal, Daiki Mizushima, Banzragch Battur, Naoaki Yokoyama, Badgar Battsetseg, Noboru Inoue, Yoshiyasu Kobayashi*. Polyradiculoneuropathy in dourine-affected horses. **Neuromuscular Disorders**. 2019; 29(6): 437-443. PMID: 31101461
 17. Keisuke Suganuma, Daisuke Kondoh, Thillaiampalam Sivakumar, Daiki Mizushima, Afra' a Tajelsir Mohamed Elata, Oriel M. M. Thekiso, Naoaki Yokoyama, Noboru Inoue*. Molecular characterization of a new *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* isolate supports the two main phylogenetic lineages of this species in Japanese cattle. **Parasitology Research**. 2019; 118(6): 1927-1935. PMID: 31055671
 18. Erandi Gunasekara, Thillaiampalam Sivakumar, Hemal Kothalawala, Thuduwege Sanath Abeysekera, Amitha Sampath Weerasingha, Singarayar Caniciyas Vimalakumar, Ratnam Kanagaratnam, Palitha Rohana Yapa, Atambekova Zhyldyz, Ikuo Igarashi, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Naoaki Yokoyama*. Epidemiological survey of hemoprotozoan parasites in cattle from low-country wet zone in Sri Lanka. **Parasitology International**. 2019; 71: 5-10. PMID: 30858106
 19. Bumduuren Tuvshintulga, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi*. Development of unstable resistance to diminazene aceturate in *Babesia bovis*. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. 2019; 9: 87-92. PMID: 30785049
 20. Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Mohamed Abdo Rizk, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi*. Evaluation of the *in vitro* and *in vivo* inhibitory effect of thymoquinone on piroplasm parasites. **Parasites & Vectors**. 2019; 12(1): 37. PMID: 30651142
 21. Batsaikhan Enkhtaivan, Sandagdorj Narantsatsral, Batdorj Davaasuren, Davaajav Otgonsuren, Tovuu Amgalanbaatar, Erdenekhuu Uuganbayar, Myagmar Zoljargal, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Keisuke Suganuma, Nthatisi Innocentia Molefe, Thillaiampalam Sivakumar, Noboru Inoue, Banzragch Battur, Badgar Battsetseg, Naoaki Yokoyama*. Molecular detection of *Anaplasma ovis* in small ruminants and ixodid ticks from Mongolia. **Parasitology International**. 2019; 69: 47-53. PMID: 30458297

22. Keigo Takeda*, Hiromasa Yamada, Kenji Ishikawa, H Sakakita, Jaeho Kim, Masashi Ueda, Jun-ichiro Ikeda, Yoshihiro Akimoto, Yosky Kataoka, **Naoaki Yokoyama**, Yuzuru Ikehara, Masaru Hori. Systematic diagnostics of the electrical, optical, and physicochemical characteristics of low-temperature atmospheric-pressure helium plasma sources. **Journal of Physics D: Applied Physics**. 2019; 52: 165202. 10.1088/1361-6463/aaff44
23. Gaber E-S Batiha, Amani M Beshbishy, Dickson S Tayebwa, Oluyomi S Adeyemi, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*. Anti-piroplasmic potential of the methanolic *Peganum harmala* seeds and ethanolic *Artemisia absinthium* leaf extracts. **The Journal of Protozoology Research**. 2019; 29: 8-25. doi.org/10.32268/jprotozooolres.29.1-2_8
24. Tserendorj Munkhjargal, Gaber El-Saber Batiha, Amani Magdy Beshbishy, Mohamed Abdo Rizk, Azirwan Guswanto, Toshi Onikubo, Tayebwa Dickson, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*. Improvement of SYBR Green I-based fluorescence assay reading procedure for anti-babesial drugs screening *in vitro*. **The Journal of Protozoology Research**. 2019; 29: 26-43. doi.org/10.32268/jprotozooolres.29.1-2_26

総説

1. Mohamed Abdo Rizk, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Sabry El-Khodery, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi*. Discovering the *in vitro* potent inhibitors against *Babesia* and *Theileria* parasites by repurposing the Malaria Box: A review. **Veterinary Parasitology**. 2019; 274: 108895. PMID: 31494399
2. ThankGod E Onyiche, Keisuke Suganuma, Ikuo Igarashi, **Naoaki Yokoyama**, Xuenan Xuan, Oriol Thekisoe*. A Review on Equine Piroplasmosis: Epidemiology, Vector Ecology, Risk Factors, Host Immunity, Diagnosis and Control. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2019; 16(10): 1736. PMID: 31100920
3. Rika Umemiya-Shirafuji*, Kozo Fujisaki, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Mouni, **Naoaki Yokoyama**, Hiroshi Suzuki, Noboru Inoue, Xuenan Xuan. Hard ticks as research resources for vector biology: from genome to whole-blood level (Mini Review). **The Japan Society of Medical Entomology and Zoology**. 2019; 70: 181-188. doi.org/10.7601/mez.70.181

著書

1. **横山直明** (分担執筆) : バベシア症、p48-49、動物病院スタッフのための犬と猫の感染症ガイド、小沼 守、前田 健、佐藤 宏監修、緑書房、2019 年
2. **横山直明** (分担執筆) : 原虫類概説 (生態と発育) p9-10、アピコンプレックス類 (ピロプラズマ症) p65-82、動物寄生虫病学 (四訂版)、板垣 匡、藤崎幸蔵編著、朝倉書店、2019 年

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 「牛の放牧衛生」、家畜衛生講習会（牛疾病特殊講習会）、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門（つくば）、2019年6月16日
2. 「北海道における牛小型ピロプラズマ病の現状と対策について」、北海道公共牧場会 夏季研修会、十勝プラザ（帯広）、2019年8月21日
3. 「人獣共通感染症について～北海道に潜む人獣共通感染症の病原体とは～」、ジョイントセミナー（高校生への出前講義）、苫小牧東高校（苫小牧）、2019年11月15日

8. 招待講演等

1. 「Bovine babesiosis ~Role of OIE reference laboratory~」OIE special seminar、Hue University of Agriculture and Forestry, Vietnam. 2019年11月5日
2. 「Bovine babesiosis ~Role of OIE reference laboratory~」OIE special seminar、Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Thailand. 2020年2月11日

9. 獲得研究費

1. 平成 31 年度 家畜衛生対策事業（農林水産省・消費・安全局）「我が国の OIE 認定施設活動支援事業」、代表、平成 31 年度
2. 平成 31 年度 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化 B）（文部科学省）「新たに発見された病原性牛バベシアに対する国際防疫体制強化に向けた基盤研究」（19KKO174）、代表、平成 31 年度～令和 3 年度
3. 平成 30 年度 挑戦的研究（萌芽）（文部科学省）「シカ小型ピロプラズマが牛小型ピロプラズマ病の発症に与える影響」（18K19257）、代表、平成 30 年度～令和元年度
4. 平成 28 年度 基盤研究 B（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～令和元年度（繰越）
5. 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～令和元年度
6. 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～令和元年度
7. 平成 30 年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、既存薬剤が効かないヒトバベシア病にも対峙できる併用治療法の開発（外国人特別研究員 TUVSHINTULGA BUMDUUREN）、受入研究者、平成 30 年度～令和 2 年度
8. 平成 30 年 基盤研究（B）（文部科学省）「ピロプラズマ病に対するコンビネーション治療法の家畜への実用化を目指した研究開発」（18H02337）（代表者 五十嵐郁男）、分担、平成 30 年度～令和 2 年度
9. 平成 31 年度 研究活動スタート支援（文部科学省）「Determination of host range and global distribution of Babesia sp. Mymensingh, a recently discovered virulent Babesia capable of causing clinical babesiosis in cattle」（19K23704）（代表者 Thillaiampalam

Sivakumar) 、支援、平成 31 年度～令和 2 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. Phung Thang Long: 「国際疫学調査（ベトナム）」 Hue University of Agriculture and Forestry, Vietnam, 2005 年 1 月～、大学間学術交流協定
2. Nattawooti Sthitmatee: 「国際疫学調査（タイ）」 Chiang Mai University, Thailand, 2012 年 12 月～、大学間国際学術交流協定
3. Badgar Battsetseg: 「国際疫学調査（モンゴル）」 Institute of Veterinary Medicine, Mongolia, 2019 年 6 月～部局間国際学術交流協定
4. Seekkuge Susil Priyantha Silva: 「国際疫学調査（スリランカ）」 Veterinary Sesech Institute, Sri Lanka, 2019 年 7 月～、部局間国際学術協定

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。バベシアおよびマラリア原虫で、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
- ・ 日本住血吸虫症の適正診断技術の開発研究
- ・ 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. 2019 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、外国産のバベシア原虫（バベシア・ボビス *Babesia bovis*）での遺伝子改変原虫の作製にゲノム編集（CRISPR/Cas9 系）の技術を応用して、専門誌に公表いたしました。具体的には、CRISPR/Cas9 系を応用して、spherical body protein 3（SBP3）へのタグの付加や thioredoxine peroxidase 1（tpx-1）遺伝子への点変異の導入に成功いたしました。この技術を応用することで、バベシア原虫でのゲノム機能解析や GAP 開発研究が、更に進展することが期待できます（論文リスト 5）。一方、国産のバベシア原虫（バベシア・オバタ *Babesia ovata*）では、これまで詳細な研究がおこなわれていなかったマダニ体内での発育ステージの分子論に切り込むため、ウシ赤血球内での発育ステージからマダニ体内での発育ステージへの分化を試験管内培養系で誘導する手法を確立して、専門誌に公表いたしました。この技術を応用するこ

とで、バベシア原虫でのマダニ体内発育ステージ分化メカニズムの研究や伝播阻止型ワクチン (TBV) の開発研究が、進展することが期待できます (論文リスト4)。また、メキシコ合衆国ケレタコ自由大学との国際共同研究では、外国産のバベシア原虫(バベシア・ビゲミナ *Babesia bigemina*) のワクチン候補抗原の一つロプトリータンパク質 RON2 の性状を解析して、専門誌に公表いたしました (論文リスト1)。

- ・ 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。一方、日本住血吸虫症の診断法を開発する研究では、酵素抗体法 (ELISA) や POCT をはじめとする、この寄生虫病の排除・撲滅に向けて社会実装に適した適性診断技術の開発を目指しております。今年度は、日本住血吸虫セルカリア (感染型幼虫) が哺乳類宿主への経皮感染時に皮膚角質層を溶解するために分泌するタンパク質カテプシン B を ELISA での診断抗原に応用して、専門誌に公表いたしました (論文リスト3)。カテプシン B のように宿主が感染の極初期に暴露される抗原を血清診断法に応用することで、日本住血吸虫症の早期診断の開発が可能になります。また、私達がこれまでに、患者診断用の ELISA 抗原として有用であることを報告している thioredoxine peroxidase 1 (Tpx-1) が、保虫宿主イヌでの診断用抗原としても有用であることを見出し、専門誌に公表いたしました (論文リスト2)。この抗原を ELISA や POCT などの高感度・高特異性の診断法に応用することで、患者と保虫宿主の日本住血吸虫症の診断に共通して適応することができる、One-Health 診断法が開発が可能になります。

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 (倫理委員会・利益相反委員会担当)
- ・ 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

- ・ "Special Lecture Series" on Molecular and Cellular biology of Trypanosomes: Prof. Dr. Mark Carrington University of CAMBRIDGE "How do trypanosome receptors for host macromolecules avoid the host immune response?" (令和 2 年 10 月 15 日、原虫病研究センター PK-Hall)
- ・ "Special Lecture Series" on Ticks and Tick-borne Diseases: Dr. Marie Jalovecka Institute of Parasitology, Biology Centre CAS "Establishment of *Babesia* laboratory model and its experimental application." Dr. Daniel Sojka Institute of Parasitology, Biology Centre CAS "Proteolytic targets in ticks and tick-borne diseases." (令和 2 年 11 月 14

日、原虫病研究センター PK-Hall)

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 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
- ・ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程教育リーディングプログラム学術委員会委員
- ・ 千葉大学真菌医学研究センターNBRP 運営委員会委員
- ・ 日米医学協力計画寄生虫疾患部会パネル

6. 2019 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. Juan Mosqueda*, Mario Hidalgo-Ruiz, Diana Alexandra Calvo-Olvera, Diego Josimar Hernandez-Silva, Massaro Wilson Ueti, Miguel Angel Mercado-Uriostegui, Angelina Rodriguez, Juan Alberto Ramos-Aragon, Ruben Hernandez-Ortiz, **Shin-ichiro Kawazu**, Ikuo Igarashi. RON2, a novel gene in *Babesia bigemina*, contains conserved, immunodominant B-cell epitopes that induce antibodies that block merozoite invasion. **Parasitology**. 2019; 146: 1646-1654. PMID: 31452491
2. Jose Ma M Angeles, Yasuyuki Goto, Masashi Kirinoki, Lydia R Leonardo, Kharleezelle J Moendeg, Adrian P Ybañez, Pilarita T Rivera, Elena A Villacorte, Noboru Inoue, Yuichi Chigusa and **Shin-ichiro Kawazu***. Detection of canine *Schistosoma japonicum* infection using recombinant thioredoxin peroxidase-1 and tandem repeat proteins. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 2019; 81: 1413-1418. PMID: 31391359
3. Adrian Miki C Macalanda, Jose Ma M Angeles, Kharleezelle J Moendeg, Minh-Anh Dang-Trinh, Luna Higuchi, Masashi Kirinoki, Yuichi Chigusa Lydia R Leonardo, Elena A Villacorte, Pilarita T Rivera, Yasuyuki Goto and **Shin-ichiro Kawazu***. *Schistosoma japonicum* cathepsin B as potential diagnostic antigen for Asian zoonotic schistosomiasis. **Parasitology Research**. 2019; 118: 2601-2608. PMID: 31377909
4. Thu-Thuy Nguyen, Minh-Anh Dang-Trinh, Luna Higuchi, Juan Mosqueda, Hassan Hakimi, Masahito Asada, Junya Yamagishi, Rika Umemiya-Shirafuji and **Shin-ichiro Kawazu***. Initiated *Babesia ovata* sexual stages under *in vitro* conditions were recognized by anti-CCp2 antibodies, showing changes in the DNA content by imaging flow cytometry. **Pathogens**. 2019; 8: pii: E104. PMID: 31319568
5. Hassan Hakimi, Takahiro Ishizaki, Yuto Kegawa, Osamu Kaneko, **Shin-ichiro Kawazu** and Masahito Asada*. Genome editing of *Babesia bovis* using the CRISPR/Cas9 system. **mSphere**. 2019; 4: pii: e00109-19. PMID: 31221627
6. Takeshi Q Tanaka, Suzumi M Tokuoka, Yuto Kegawa, Daichi Nakatani, Fumie Hamano, **Shin-ichiro Kawazu**, Thomas E Wellems, Kiyoshi Kita, Takao Shimizu and Fuyuki

- Tokumasu*. Polyunsaturated fatty acids promote *Plasmodium falciparum* gametocytogenesis. **Biology Open**. 2019; 8: pii: bio042259. PMID: 31189559
7. Raffy Jay C Fornillos, Ian Kendrich C Fontanilla, Yuichi Chigusa, Mihoko Kikuchi, Masashi Kirinoki, Naoko Kato-Hayashi, Shin-ichiro Kawazu, Jose Ma M Angeles, Ian Kim B Tabios, Kharleezelle J Moendeg, Yasuyuki Goto, Pebbles G Tamayo, Eloina F Gampoy, Imelda Pates, James C Chua and Lydia R Leonardo*. *Schistosoma japonicum* in the snail *Oncomelania hupensis quadrasi* in endemic villages in the Philippines: Need for snail surveillance technique. **Tropical Biomedicine**. 2019; 36: 402-411.

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. One Health: Diagnostics in Zoonotic Schistosomiasis, The 1st International Forum on Collaborative Researchs in Parasitic Diseases, Parasitology Beyond Microscopy, (1st IFCR) : シンポジウム、Manila, Philippines、2019年5月23日
2. 住血吸虫症対策における Reservoir Host の検査法の開発 -フィリピンにおける住血吸虫症対策での経験から-、世界的な対策の中で、今後求められる Neglected Tropical Diseases の診断技術の開発 : シンポジウム、東京都、2019年11月5日
3. Molecular Techniques in the Study of *Babesia* Parasites, Open Lecture Series: Advanced Techniques in Parasitic Diseases Research : シンポジウム、Los Baños, Philippines、2019年12月10日

9. 獲得研究費

1. 平成 30 年度 挑戦的研究（萌芽）（文部科学省）、サイトカイン発現住血原虫の開発研究（18K19258）、代表、平成 30 年度～令和 2 年度
2. 共同研究 ネオファーマジャパン株式会社、5-ALA（5-アミノレブリン酸）の日本住血吸虫症治療効果の検証（K18051）、代表、平成 30 年度～令和 2 年度
3. 共同研究 ネオファーマジャパン株式会社、5-ALA（5-アミノレブリン酸）のピロプラズマ病治療効果の検証（K18087）、代表、平成 30 年度～令和 2 年度
4. 平成 31 年度 基盤研究（B）（一般）（文部科学省）、バベシアのマダニ体内発育ステージ抗原の網羅的解析:伝搬阻止ワクチン開発の基盤整備（19H03120）、代表、平成 31 年度～令和

3年度

5. 令和元年度 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）（文部科学省）、バマイクロサテライトマーカーを応用した日本住血吸虫症対策の創出を目指した研究（19KK0173）、代表、令和元年度～令和4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. Memorandum Of Understanding (MOU) 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、2008年1月～2023年11月（2018年11月に延長）、学術交流協定、フィリピン大学マニラ校・公衆衛生学部
2. Memorandum Of Understanding (MOU) between The College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Cavite State University, Philippines and National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan、2019年5月～2022年5月、学術交流協定、カビテ州立大学・生物獣医科学部
3. Memorandum Of Understanding (MOU) on academic cooperation between Philippines Carabao Center and National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan、2019年7月～2022年7月、学術交流協定、フィリピンカラバオセンター
4. Daniel Sojka : nstitute of Parasitology, Biology Centre CAS、The development of a DiCre recombinase-expressing strain of *Babesia* for the creation of conditional gene knockouts、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究（2019-joint-2）
5. 川合 覚：獨協医科大学熱帯病寄生虫病学講座、サルマラリアの肝臓休眠体を標的とした可視化原虫株の作製、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究（2019-joint-3）
6. 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、2019年4月1日～2020年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究（2019-joint-1）

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症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. 2019 年度研究の総括

- ・ *Trypanosoma equiperdum* はウマのトリパノソーマ症の一種である媾疫の病原体であり、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（こうえき）は OIE の定める国際重要家畜疾患であるにもかかわらず、*Trypanosoma equiperdum* 寄生動態と臨床症状との関連（病態生理）は未解明であり、また媾疫の制御に重要である治療法は確立されていません。我々は *Trypanosoma equiperdum* の感染が顔面神経麻痺や運動障害などの神経症状を引き起こす機構を明らかにすることを目的として、モンゴル国で媾疫と診断された 4 症例を対象として病理学的探索を実施しました。その結果、広汎な多発性神経根ニューロパチーと、その神経に支配される領域に筋萎縮が認められました。本研究により媾疫の臨床症状の一つである神経麻痺が引き起こされる機構の一端が明らかとなりました（論文リスト 5）（モンゴル国立生命科学大学獣医学研究所、帯広畜産大学基礎獣医学部門との共同研究）。またモンゴルにおいてウマはその経済的な価値に加え、遊牧民のアイデンティティーとして精神的・文化的に非常に重要な家畜です。媾疫に対する有効な治療法が確立されていないため、OIE は媾疫罹患ウマの摘発淘汰による清浄化を推奨していますが、モンゴルを始めとする遊牧民族国家での実施は困難です。そこで媾疫治療法の確立を目的として、媾疫症例ウマの一例に対する実験的治療を試みました。その結果、

Trypanosoma equiperdum が脳脊髄液に寄生する前であれば、既存の動物トリパノソーマ治療薬によって治療が可能であることを明らかにしました。さらに本治療によって繁殖成績の改善も認められました（論文リスト2）。本研究により媾疫の早期診断とそれに引き続く投薬治療によって、媾疫が完治できる可能性が示唆されました（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。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、モンゴル国産薬用植物から抽出された各種化合物の抗トリパノソーマ活性を検証しています。本年度はゴビ砂漠などに自生する *Brachanthemum gobicum* から抽出された各種化合物の抗トリパノソーマ活性を検討した結果、アシル化リグナン類に抗トリパノソーマ活性を見出しました。（論文リスト9）（東北医科薬科大学、モンゴル国立大学との共同研究）
- ・ ロバはスーダン国をはじめとするアフリカ・中東諸国で重要な家畜です。ロバは一般的にトリパノソーマ症などの住血原虫病に対して耐性を示すため、これらの原虫の待機宿主として重要な役割を果たしていると考えられていますが、これまでにロバにおける動物トリパノソーマの調査は十分に行われていません。そこでスーダン国の首都（ハルツーム）近郊で飼養されているロバを対象に動物トリパノソーマに対する血清疫学及び分子疫学調査を行いました。血清疫学調査の結果、10%～28%のロバで抗トリパノソーマ抗体が検出され、これらのロバでトリパノソーマ感染が疑われました。さらに分子疫学調査の結果、38.9%のロバから *Trypanozoon* 亜属の遺伝子断片を検出しました。さらにアフリカトリパノソーマを生物学的に媒介するツェツェバエ (*Glossina* spp.) の生息域から遠く離れているハルツームで飼養されているロバにおいて、ツェツェバエによって生物学的に媒介される *Trypanosoma congolense* の遺伝子断片が9.1%のロバから検出されました。この結果は、アフリカ諸国での動物トリパノソーマ症制御を考える上で、ツェツェバエ生息域外でも、ツェツェバエ媒介性アフリカトリパノソーマの存在を考慮に入れなければならないことを示唆しています（論文リスト3）（スーダン科学技術大学との共同研究）。
- ・ *Trypanosoma theilrei* は日本のウシにも広く感染している大型のトリパノソーマです。本年度は畜産フィールド科学研究センターで飼養しているウシに感染していた *Trypanosoma theilrei* の分離培養と、形態学的・遺伝学的な解析を行いました。形態学的な解析の結果、全長が $60 \pm 7.8 \mu\text{m}$ 長大であるとともに多形性を示すなど、これまでに報告されている *Trypanosoma theilrei* (*Megatrypanum* 亜属) の特徴と一致しました。また遺伝学的な解析の結果、北海道から分離された *Trypanosoma theilrei* 株と同一の TthII クレードに属することがわかりました。（論文リスト8）（ノースウエスト大学（南ア）、帯広畜産大学基礎獣医学部門との共同研究）

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

The 4th International Conference on NTTAT of the OIE NTTAT Network, Hustai National Park, Ulaanbatar, Mongolia, 2019/8/14,15 (モンゴル獣医学研究所との共催)

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2019 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. Aiko Kume, Keisuke Suganuma, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki, Effect of vegetable oils on the experimental infection of mice with *Trypanosoma congolense*. **Experimental Parasitology**. 2020; 210: 107845. PMID: 107845
2. Batbold Davkharbayar, Batdorj Davaasuren, Sandagdorj Narantsatsral, Banzragch Battur, Myagmarsuren Punsantsogvoo, Badgar Battsetseg, Daiki Mizushima, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma*. Treatment efficiency of combination therapy with Diminazene Aceturate and Quinapyramine Sulfate in a horse with Dourine. **Journal of Equine Veterinary Science**. 2020; 87: 102905. PMID: 102905
3. Afraa Elata, Ehab Mossaad, Rawan Satti, Nadia Matar, Yuma Ohari, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma*. Serological and molecular detection of selected hemoprotozoan parasites in donkeys in West Omdurman, Khartoum State, Sudan. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82(3):286-293 PMID: 31969541
4. Ehab Mossaad, Ahmed Ali Ismail, Abdalla Mohamed Ibrahim, Peter Musinguzi, Tama-dor E E Angara, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma*. Prevalence of different trypanosomes in livestock in Blue Nile and West Kordofan States, Sudan. **Acta Tropica**. 2019; 203:105302. PMID: 31857080
5. Bayasgalan Mungun-Ochir, Noriyuki Horiuchi, Adilbish Altanchimeg, Kenji Koyama, Keisuke Suganuma, Uranbileg Nyamdolgor, Ken-ichi Watanabe, Purevdorj Baatar-jargal, Daiki Mizushima, Banzragch Battur, Naoaki Yokoyama, Badgar Battsetseg, Noboru Inoue, Yoshiyasu Kobayashi. Polyradiculoneuropathy in dourine-affected horses. **Neuromuscular Disorders**. 2019; 29:437 – 443. PMID: 31101461

6. ThankGod E Onyiche, **Keisuke Suganuma**, Ikuo Igarashi, Naoaki Yokoyama, Xuenan Xuan, Oriel M M Thekiso. A Review on Equine Piroplasmiasis: Epidemiology, Vector Ecology, Risk Factors, Host Immunity, Diagnosis and Control. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2019; 16:1736. PMID: 31100920
7. Philippe Büscher, Mary Isabel Gonzatti, Laurent Hébert, Noboru Inoue, Ilaria Pascucci, Achim Schnauffer, **Keisuke Suganuma**, Louis Touratier, Nick Van Reet. Equine trypanosomiasis: enigmas and diagnostic challenges. **Parasites & Vectors**. 2019; 12:234. PMID: 31092285
8. **Keisuke Suganuma***, Daisuke Kondoh, Thillaiampalam Sivakumar, Daiki Mizushima, Afraa Elata, Oriel M M Thekiso, Naoaki Yokoyama, Noboru Inoue. Molecular characterization of a new *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* isolate supports the two main phylogenetic lineages of this species in Japanese cattle. **Parasitology Research**. 2019; 118:1927-1935. PMID: 31055671
9. Batsukh Odonbayar, Toshihiro Murata, **Keisuke Suganuma**, Yoshinobu Ishikawa, Buyanmandakh Buyankhishig, Javzan Batkhuu, Kenroh Sasaki. Acylated Lignans Isolated from *Brachanthemum gobicum* and Their Trypanocidal Activity. **Journal of Natural Products**. 2019; 82: 774 – 784. PMID: 30896183

総説

該当なし

著書

動物寄生虫病学改定第4版、朝倉書店、分担執筆

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 帯広柏葉高校進学相談会模擬授業「寄生虫との戦い」、2019年6月20日
2. 帯広畜産大学オープンキャンパス「寄生虫研究のススメ」、2019年8月3日
3. 畜大ふれあいフェスティバル「寄生虫を観察してみよう!」、2019年12月1日

8. 招待講演等

1. Keisuke Suganuma. Equine trypanosomiasis (lecture and hands-on-training). Seminar on Equine Disease Testing (blood parasites), Hong Kong AFCD Tai Lung Veterinary Laboratory, Agriculture, Fisheries and Conservation Department, Hong Kong, 2020/1/13
2. Keisuke Suganuma. *In vitro* culture of *Trypanosoma*. Open lecture Series: Advanced Techniques in Parasitic Diseases Researches, University of the Philippines Los Banos, Faculty of Veterinary Medicine, The Philippines, 2019/12/10
3. Keisuke Suganuma *et al.*, Dourine (*Trypanosoma equiperdum* infection in equidae)

control campaign in Mongolia, Conference on the Cooperation and Collaboration on Prevention and Control of Animal Disease, Hangzhou, China, 2019/5/21-5/24

9. 獲得研究費

1. 2019 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、2019 年度～2021 年度
2. 2014 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、2014 年度～2019 年度
3. 平和中島財団研究アジア地域重点学術研究助成、モンゴル国産薬用植物資源の家畜トリパノソーマ病治療への活用、代表、2019 年度
4. 共同研究 ネオファーマジャパン株式会社、5-ALA (5-アミノレブリン酸) のトリパノソーマ症治療効果の検証、代表、2018 年度～2020 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、モンゴル国薬用植物による現地家畜トリパノソーマ症・ピロプラズマ症対策、2019 年 4 月 1 日～2020 年 3 月 31 日、2019 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と作用メカニズム解析、2019 年 4 月 1 日～2020 年 3 月 31 日、2019 年度原虫病研究センター共同研究
3. 堀内 雅之：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、小型動物を用いた膵膵トリパノソーマ感染モデルの構築と病理学的解析、2019 年 4 月 1 日～2020 年 3 月 31 日、2019 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
- ・ 渡り鳥のクリプトスポリジウム感染疫学調査

3. 2019年度研究の総括

- ・ 渡り鳥は様々な病原体を外部から持ち込むことが知られています。北方からの渡り鳥であるカモにおけるクリプトスポリジウム属の感染状況の調査を行いました。鳥類に感染性のある *Cryptosporidium avian genotype III* の10%および *Cryptosporidium baileyi* の1.5%の糞便中からオーシストが検出され、感染が確認されました（論文リスト1）。
- ・ 樹木からの抽出物にはある種の病原体に対する抑制効果を示すことはよく知られています。我々はミズナラの外樹皮にトキソプラズマ原虫の増殖抑制効果があることを見出し、抑制物質の本体の同定に成功しました（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. 2019 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. Rehab Youssef Salama, Abdelbaset E Abdelbaset, Yohei Takeda, Kunitoshi Imai, Haruko Ogawa, **Makoto Igarashi**. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from migratory ducks around Tokachi subprefecture, Hokkaido, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; doi: 10.1292/jvms.19-0586. PMID: 32224553
2. Marina Endo, Kengo Shigetomi, Shinya Mitsuhashi, **Makoto Igarashi**, Makoto Ubukata. Isolation, structure determination and structure-activity relationship of anti-toxoplasma triterpenoids from *Quercus crispula* Blume outer bark. **Journal of Wood Science**. 2019; 65: 3. <https://doi.org/10.1186/s10086-019-1782-8>
3. Albertus Eka Yudistira Sarwono, Shinya Mitsuhashi, Mohammad Hazzaz Bin Kabir, Kengo Shigetomi, Tadashi Okada, Fumina Ohsaka, Satoko Otsuguro, Katsumi Maenaka, **Makoto Igarashi**, Kentaro Kato, Makoto Ubukata. Repurposing existing drugs: identification of irreversible IMPDH inhibitors by high-throughput screening. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**. 2019; 34: 171-178. PMID: 30451014

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

当研究室では地球規模で問題となっている原虫病であるバベシア症並びにマラリアを対象に、新規予防・治療法の開発に向け、その赤血球寄生機構の解明を行っています。バベシア原虫、マラリア原虫はアピコンプレクサ門に属する赤血球寄生原虫であり、赤血球寄生ステージにおいて哺乳類宿主に病気を引き起こします。これらの原虫は巧妙なメカニズムで宿主赤血球に侵入し、赤血球内で増殖すると共に、赤血球内での生存の維持や宿主免疫の回避のため、能動的に赤血球の改変を行いますが、その詳細なメカニズムは未だ明らかになっていません。そこで、当研究室では、ゲノム機能解析のための遺伝子改変技術を確認すると共に、イメージング解析やオミクス解析といった手法を組み合わせることで原虫の寄生メカニズムを明らかにしています。

2. 主な研究テーマ

- ・ ピロプラズマ原虫の宿主赤血球修飾機構の解明
- ・ ピロプラズマ原虫やマラリア原虫の赤血球侵入機構の解明
- ・ 偶蹄類マラリア原虫の疫学及び病原性の解明

3. 2019 年度研究の総括

- ・ *Babesia bovis* はウシのバベシア原虫の中で最も病原性の高い原虫です。*B. bovis* 感染赤血球はウシの脳毛細血管内皮細胞に接着することで血管を栓塞し、ウシに致命的な神経症状を引き起こしますが、そのメカニズムについては感染赤血球表面に局在する原虫由来の分子 VESA が関わるという知見しかありません。そこで、*B. bovis* 感染赤血球表面のプロテオーム解析を行い、同定された分子についてその機能解析を行っています。また、その過程で新たなバベシア原虫遺伝子改変手法として CRISPR/Cas9 によるゲノム編集法を確立しました。ゲノム編集法の確立により、高効率にバベシア原虫遺伝子を改変する事が可能となりました(論文リスト 8)。その他にもセンター内外の研究者と共同研究を行い、バベシア原虫における遺伝子改変技術の開発やバベシア原虫有性世代の解析を行いました(論文リスト 1,5,6)。
- ・ ヒトのマラリアは年間 2 億人の患者と 40 万人以上もの死者を出す感染症ですが、スイギュウやヤギといった偶蹄類家畜のマラリアは病原性、分布域を含め、その疫学は謎に包まれています。そこで、偶蹄類マラリア原虫の病原性を明らかにする一環として、イランのヤギについてマラリア原虫と他の住血微生物との混合感染状況を調査し、マラリア原虫とアナプラズマ・タイレリア感染が負の相関を示すことを明らかにしました(論文リスト 7)。また、スイギュウのマラリア原虫 *Plasmodium bubalis* のゲノム解読を北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンターの山岸潤也博士と共同で行い、核ゲノム及びアピコプラストゲノムの一部塩基配列を明らかにしました。さらに、ネパール科学技術アカデミーの Kishor Pandey 博士が行っている、

ネパールにおける偶蹄類マラリア原虫の疫学調査に協力し、ネパールのスイギュウにも *P. bu-balis* が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4）。

- ・ネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* はヒトに感染するマラリア原虫に比べ、遺伝子組換え原虫の作出が容易なため、マラリア原虫のゲノム機能を解析する上で有用なツールとなっています。近年、リン酸化シグナルが原虫の赤血球侵入に重要な役割を担っていることが明らかになったため、長崎大学・熱帯医学研究所の金子修博士との共同研究を進め、*P. yoelii* のキナーゼ及びシユードキナーゼ遺伝子を網羅的にノックアウトする実験を行いました。その中で、シユードキナーゼの一つ、PypPK1 がマラリア原虫の赤血球侵入だけでなく、ベクターである蚊体内での有性生殖においても重要な役割を果たしていることを明らかにしました（論文リスト2）。さらに、金子博士の推進するヒトの三日熱マラリア原虫における遺伝子組換え法の確立に協力し、*P. vivax* の推定遺伝子プロモーター配列やセントロメア配列を *P. yoelii* に遺伝子導入することで、その機能評価を行いました（論文リスト3）。

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
- ・日本獣医学会
- ・日本獣医寄生虫学会 評議員、渉外・広報委員
- ・日本熱帯医学会
- ・米国微生物学会

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. 2019 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. Mingming Liu, Shengwei Ji, Mohamed Abdo Rizk, Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Jixu Li, Yongchang Li, Weiqing Zheng, Byamukama Benedicto, Maria Agnes Tumwebaze, **Masahito Asada**, and Xuenan Xuan. Transient Transfection of the Zoonotic Parasite *Babesia microti*. **Pathogens**. 2020; 9(2). E108. PMID: 32050586
2. Takahiro Ishizaki, Nattawat Chaiyawong, Hassan Hakimi, **Masahito Asada**, Mayumi Tachibana, Tomoko Ishino, Kazuhide Yahata, Osamu Kaneko. A novel *Plasmodium yoelii* pseudokinase, PypPK1, is involved in erythrocyte invasion and exflagellation center formation. **Parasitology International**. 2020; 76:102056. PMID: 31953169

3. Kittisak Thawnashom, Miho Kaneko, Phonepadith Xangsayarath, Nattawat Chaiyawong, Kazuhide Yahata, **Masahito Asada**, John H Adams, Osamu Kaneko. Validation of *Plasmodium vivax* centromere and promoter activities using *Plasmodium yoelii*. **PLoS One**. 2019; 14(12): e0226884. PMID: 31860644
4. Ram Chandra Kandel, Mitesh Shrestha, Amir Sadaula, Medha Kc, Jyoti Maharjan, Ghan Shyam Solanki, Mukesh Kumar Chalise, **Masahito Asada**, Osamu Kaneko, Ram Chandra Poudel, Kishor Pandey. First report of malaria parasites in water buffalo in Nepal. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2019; 100348. PMID: 31796186
5. Catarina Rosa, **Masahito Asada**, Hassan Hakimi, Ana Domingos, Madalena Pimentel, Sandra Antunes. Transient Transfection of *Babesia Ovis* Using Heterologous Promoters. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2019; 10(6): 101279. PMID: 31481343
6. Thu-Thuy Nguyen, Minh-Anh Dang-Trinh, Luna Higuchi, Juan Mosqueda, Hassan Hakimi, **Masahito Asada**, Junya Yamagishi, Rika Umemiya-Shirafuji and Shin-ichiro Kawazu. Initiated *Babesia ovata* Sexual Stages under In Vitro Conditions Were Recognized by Anti-CCp2 Antibodies, Showing Changes in the DNA Content by Imaging Flow Cytometry. **Pathogens**. 2019; 8(3): 104. PMID: 31319568
7. Hassan Hakimi, Ali Sarani, Mika Takeda, Osamu Kaneko, **Masahito Asada***. Epidemiology, Risk Factors, and Co-Infection of Vector-Borne Pathogens in Goats from Sistan and Baluchestan Province, Iran. **PLoS One**. 2019; 14(6): e0218609. PMID: 31220153
8. Hassan Hakimi, Takahiro Ishizaki, Yuto Kegawa, Osamu Kaneko, Shin-ichiro Kawazu, **Masahito Asada***. Genome Editing of *Babesia bovis* Using the CRISPR/Cas9 System. **mSphere**. 2019; 4(3). pii: e00109-19. PMID: 31189559.

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 31 年度 基盤研究 (C) (一般研究) (文部科学省)、脳性バベシア症解明に向けたバベシア・ボビス感染赤血球の血管内皮細胞接着機構解析 (19K06384)、代表、平成 31 年度～令和 3 年度
2. 平成 31 年度 基盤研究 (B) (一般研究) (文部科学省)、バベシアのマダニ体内発育ステージ抗原の網羅的解析：伝搬阻止ワクチン開発の基盤整備 (19H03120)、分担、平成 31 年度～令和 3 年度
3. 平成 31 年度 基盤研究 (B) (一般研究) (文部科学省)、マラリア原虫メロゾイト細胞内小器官からの分子分泌シグナル機構の解明 (19H03461)、分担、平成 31 年度～令和 3 年度
4. 平成 31 年度 挑戦的研究(萌芽) (文部科学省)、サイトカイン発現住血原虫の開発研究 (18K19258)、分担、平成 30 年度～平成 31 年度
5. 平成 31 年度 帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究 (帯広畜産大学)、*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、代表、平成 31 年度
6. 平成 31 年度 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター共同研究 (北海道大学) ヤギマラリア原虫 *Plasmodium caprae* のゲノム解読、代表、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

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