

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ルボアとしての意義を明らかにするため、地元に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
- ・ エゾシカ保有病原体叢の網羅的解析

3. 2020 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。我々のグループでは現在までに、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・ブラストサイジン選択システムの確立に成功しました。この研究成果応用し、三重遺伝子変異体による *Glyoxalase* 遺伝子機能解析を行いました。本研究により、*Glyoxalase* はマラリア原虫のハマダラカから哺乳動物宿主への感染に重要な役割を持つことを明らかにしました。(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。令和2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、などについて調査を行いました。タイレリアについては特異的検出法を開発、クリプトスポリジウム Deer Genotype がエゾシカの優性種であり現在のところ公衆衛生リスクが低いことが確認されました。（論文リスト3,5,6）。

- ・ 犬糸状虫は獣医学上、イヌで最も重大な問題となっている寄生虫感です。定期的に駆虫を行う予防法はあるものの、生涯に渡る寄生虫薬投与の必要性や薬が効かない耐性寄生虫出現の問題があります。また、寄生虫薬の投与はペットオーナーの医師に依存するため、効果的な予防法が有るにも関わらず今も蔓延が続く深刻な寄生虫であり、抜本的な対策の提案が望まれています。我々のグループでは犬糸状虫およびフィラリアを媒介しない蚊の作出を目指して基礎研究を行っています。令和2年度についてはその一貫として、媒介ベクター蚊での感染実験および獣医学教育への効果的な生体標本提供を目指し、犬糸状虫ミクロフィラリアの汎用的凍結保存法の開発に成功しました。また、タイ王国でチェンマイ大学との共同研究により、犬糸状虫症の疫学調査を行い、犬糸状虫症のタイにおける気候・地理構造分布の相関を明らかにしました。（論文リスト2,4）

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・北日本支部長
- ・ 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. 2020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, Takahiro Shirozu, Shinya Fukumoto*. Glyoxalase pathway is required for normal liver-stage proliferation of *Plasmodium berghei*. **Biochemical and biophysical research communications**. 2021; 549: 61-66. PMID: 33667710

2. Manusvee Kaikuntod, Orapun Arjkumpa, Doolyawat Kladdkempetch, **Shinya Fukumoto**, Kriangkrai Thongkorn, Chavalit Boonyapakorn, Veerasak Punyapornwithaya, Saruda Tiwananthagorn. Geographic Spatial Distribution Patterns of *Dirofilaria immitis* and *Brugia pahangi* Infection in Community Dogs in Chiang Mai, Thailand. **Animals (Basel)**. 2020; 11(1): 33. PMID: 33375359
3. Hironobu Sato, Hiroki Hiraya, Takutoshi Sugiyama, **Shinya Fukumoto**, Ryota Matsuyama, Yojiro Yanagawa, Ryo Nakao, Takao Irie, Kensuke Taira, Akiko Yamazaki, Katsuro Hagiwara, Ayako Yoshida, Yoichi Kamata, Madoka Ichikawa-Seki. Seroprevalence of fasciolosis in Hokkaido sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) from Hokkaido Prefecture, Japan revealed by ELISA using recombinant cathepsin L1. **Parasitology international**. 2021; 80: 102222. PMID: 33137508
4. Takahiro Shirozu, Akira Soga, **Shinya Fukumoto***. Identification and validation of a commercial cryopreservation medium for the practical preservation of *Dirofilaria immitis* microfilaria. **Parasites & vectors**. 2020; 13(1): 383. PMID: 32727546
5. Takahiro Shirozu, Athanase Badolo, Akira Soga, Aya Yoshimura, Yu-ki Morishita, Mami Koketsu, Rika-Umemiya Shirafuji, Hisashi Inokuma, Naoaki Yokoyama, **Shinya Fukumoto***. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method targeting *Theileria* parasites infecting Yezo sika deer. **Parasitology international**. 2020; 77: 102130. PMID: 32325118
6. Takahiro Shirozu, Akira Soga, Yuki Morishita, Nobuaki Seki, Mami Koketsu, **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

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. 令和2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、令和元年度～令和3年度

2. 令和2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

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. 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、チェンマイ大学
2. マラリアの媒介メカニズムに関する研究（北里大学）
3. 野生動物感染症に関する網羅的解明（千葉大学）
4. マラリアワクチンの開発（金沢大学）

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性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. 2020 年度研究の総括

- ・ トキソプラズマにはデンスグラニュール（濃縮顆粒）という小器官が存在しますが、虫体が宿主細胞に侵入した後この小器官からは多くのタンパク質が分泌され（デンスグラニュールタンパク質（GRAs））、寄生体胞の形成や宿主への病原性に関与するとされています。本研究では CRISPR/Cas9 系を用いて PLK 株（遺伝子型 II）の TgGRA9 ノックアウト虫体（PLKΔGRA9）を作出しました。PLKΔGRA9 は親株（野生型）より、病原性が著しく低下していることが判明しました。この弱毒化された PLKΔGRA9 を接種したマウスでは、PLK 親株のみならず強毒の RH 株（遺伝子型 I）の再感染に対しても完全防御免疫が成立することが判明しました。（論文リスト 1）
- ・ マダニ類の転写制御因子の一種であるスポレシンはマダニワクチン候補分子としても注目されていますが、日本の優占種ではフタトゲチマダニにおいてはまだ検証されていません。そこで、本研究ではフタトゲチマダニよりスポレシン遺伝子を特定し、組換えスポレシンを作製しました。組換えスポレシンを免疫したウサギにフタトゲチマダニ吸血させところ、吸血・産卵阻止などの効果が認められました。（論文リスト 13）

- ・ 当研究室ではこれまでにマウスのバベシア症モデルにおいて、*Babesia microti* の感染後に自然治癒した場合（弱毒のため 100%自然治癒する）、強毒の *Babesia rodhaini*（未処置の場合 100%致死する）の再感染に対して完全防御免疫が成立することを示してきました。今回の研究では、*Babesia microti* の感染後に自然治癒したマウスでは、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium chabaudi* の再感染にも強い交差防御免疫が成立することを突き止めました。（論文リスト 27）
- ・ 中国、トルコ、ウガンダ、タンザニアなどにおける家畜（牛・水牛・ヤク・羊・山羊）の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、家畜に被害を与える主な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。これらの調査地域においてはマダニの積極的な駆除対策の推進が提案されました。（論文リスト 3、9、11、14、17、18、20、24、28、30、37）

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
- ・ 日本獣医寄生虫学会評議員
- ・ 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

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2020 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. Jixu Li, Eloiza May Galon, Huanping Guo, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Yang Gao, Weiqing Zheng, Paul Franck Adjou Moumouni, Mohamed Abdo Rizk, Maria Agnes Tumwebaze, Byamukama Benedicto, Aaron Edmond Ringo, Tatsunori Masatani, **Xuenan Xuan***. *PLK:Δgar9* live attenuated strain induces protective immunity against acute and chronic toxoplasmosis. **Frontiers in Microbiology**. 2021; 12: 619335. PMID: 33776955
2. Hang Li, Bingyi Yang, Mingming Liu, Shaowei Zhao, Suzhu Xie, Hao Wang, Shuang Zhang, **Xuenan Xuan**, Lijun Jia. Reproductive injury in male BALB/c mice infected with *Neospora caninum*. **Parasites & Vectors**. 2021; 14: 151. PMID: 33726783

3. Onur Ceylan, Benedicto Byamukama, Ceylan Ceylan, Eloiza May Galon, Mingming Liu, Tastunori Masatani, Xuenan Xuan, Ferda Sevinc. Tick-borne hemoparasites of sheep: A molecular research in Turkey. **Pathogens**. 2021; 10: 162. PMID: 33546428
4. Remigiusz Galecki, Jerzy Jaroszewski, Tadeusz Bakula, Xuenan Xuan. Molecular characterization of *Lipoptena cervi* from environmental samples collected in Poland. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**. 2021; 14: 41-47. PMID: 33425678
5. Rikako Konishi, Yuna Kurokawa, Kanna Tomioku, Xuenan Xuan, Akikazu Fujita. Raft microdomain localized in the luminal leaflet of inner membrane complex of living *Toxoplasma gondii*. **European Journal of Cell Biology**. 2021; 100(2): 151149. PMID: 33421842
6. Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Mohamed Abdo Rizk, Aaron Edmond Ringo, Yongchang Li, Mingming Liu, Shengwei Ji, Jixu Li, Benedicto Byamukama, Maria A Tumwebaze, Xuenan Xuan*, Ikuo Igarashi*. Impact of using pyronaridine tetraphosphate-based combination therapy in the treatment of babesiosis caused by *Babesia bovis*, *B. caballi*, and *B. gibsoni* in vitro and *B. microti* in mice. **Parasitology International**. 2021; 81: 102260. PMID: 33139594
7. Yanan Wang, Houshuang Zhang, Li Luo, Yongzhi Zhou, Jie Cao, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki, Jinlin Zhou. ATG5 is instrumental in the transition from autophagy to apoptosis during the degeneration of tick salivary glands. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 2021; 15: e0009074. PMID: 33513141
8. Chinatsu Nakamura, Mingming Liu, Youn-Kyoung Goo, Guohong Zhang, Honlin Jia, Akiko Kumagai, Houshuang Zhang, Jinlin Zhou, Yoshifumi Nishikawa, Xuenan Xuan*. Construction of a recombinant vaccinia virus expressing *Babesia gibsoni* thrombospondin-related anonymous protein and evaluation of its immunogenicity in mice. **Tropical Biomedicine**. 2020; 37: 1029-1037. PMID: 33612755
9. Yongchang Li, Eloiza May Galon, Qingyong Guo, Mohamed Abdo Rizk, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Jixu Li, Shengwei Ji, Bayin Chahan, Xuenan Xuan*. Molecular detection and identification of *Babesia* spp., *Theileria* spp., and *Anaplasma* spp. in sheep from border regions, northwestern China. **Frontiers in Veterinary Science**. 2020; 7: 630. PMID: 33195501
10. Remigiusz Galecki, Jerzy Jaroszewski, Xuenan Xuan, Tadeusz Bakula. Temporal-microclimatic factors affect the thenology of *Lipoptena fortisetosa* in central European forests. **Animals (Basel)**. 2020; 10:2012. PMID: 33139594
11. Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Aaron Edmond Ringo, Paul Franck Adjou Moumouni, Jixu Li, Yongchang Li, Shengwei Ji, Patrick Vudriko, Xuenan Xuan*. First molecular detection of *Babesia*

- ovis*, *Theileria* spp., *Anaplasma* spp., and *Ehrlichia ruminantium* in goats from western Uganda. **Pathogens**. 2020; 9: 895. PMID: 33121172
12. Yang Gao, Huanping Guo, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Jixu Li, Artemis Efstratiou, Eloiza May Galon, Rochelle Haidee Ybanez, Tatsunori Masatani, Takehisa Soma, Xuenan Xuan*. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant TgSRS2 for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in cats. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82: 1662-1665. PMID: 33071252
 13. Seung-Hun Lee, Jixu Li, paul Franck Adjou Moumouni, Kiyoshi Okado, Weiqing Zheng, Mingming Liu, Shengwei Ji, Soochong Kim, Rika Umemiya-Shirafuji*, Xuenan Xuan*. Subolesin vaccination inhibits blood feeding and reproduction of *Haemaphysalis longicornis* in rabbits. **Parasites & Vectors**. 2020; 13: 478. PMID: 32948229
 14. Benedicto Byamukama, Maria Agnes Tumwebaze, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Martin Kamilo Angwe, Jixu Li, Eloiza May Galon, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Paul Frank Adjou Moumouni, Aaron Ringo, Seung-Hun Lee, Patrick Vudriko, Xuenan Xuan*. First molecular detection and characterization of hemotropic *Mycoplasma* species in cattle and goats from Uganda. **Animals (Basel)**. 2020; 10: 1624. PMID: 32927890
 15. Aiko Iguchi, Takehisa Soma, Xuenan Xuan. Further epidemiological survey for atovaquone resistant related gene of *Babesia gibsoni* in Japan during 2015-2018. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82: 1700-1703. PMID: 32908117
 16. Afraa Elata, Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee Ybanez, Ehab Mossaad, Caro Salces, Guindolino Bajenting, Adrian Ybanez, Xuena Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma. First molecular detection and identification of *Trypanosoma evansi* in goats from Cebu, Philippines using a PCR-based assay. **Veterinary Parasitology: regional Studies and Reports**. 2020; 21: 100414. PMID: 32862917
 17. Jixu Li, Yingna Jian, Lijun Jia, Eloiza May Galon, Benedicto Byamukama, Geping Wang, Qigang Cai, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Maria Agnes Tumwebaze, Liqing Ma, Xuenan Xuan*. Molecular characterization of tick-borne bacteria and protozoans in yaks (*Bos grunniens*), Tibetan sheep (*Ovis aries*) and Bacterian camels (*Camelus bactrianus*) in the Qinghai-Tibetan Plateau Area, China. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2020; 11: 101466. PMID: 32723655
 18. Yongchang Li, Xiuxiu Wen, Min Li, Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Qingyong Guo, Mohamed Abdo Rizk, Mingming Liu, Jixu Li, Shengwei Ji, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Bayin Chahan, Xuenan Xuan*. Molecular detection of tick-borne pathogens harbored by ticks collected from livestock in the Xinjiang Uygur Autonomous region, China. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2020; 11:

101478. PMID: 32723638
19. ThankGod E Onyiche, Moeti O Taioe, Ndudim I Ogo, Thillaiampalam Sivakumar, Abdullahi A Bui, Albert W Mbaya, Xuenan Xuan, Naoaki Yokoyama, Oriel thekiso. Molecular evidence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in equines and ticks in Nigeria: prevalence and risk factors analysis. **Parasitology**. 2020; 147: 1238-1248. PMID: 32605687
 20. Aaron Ringo, Mahamed Abdo Rizk, Paul Franck Adjou Moumouni, Mingming Liu, Eloiza May Galon, Yongchang Li, Shengwei Ji, Maria Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Oriel Thekiso, Xuenan Xuan*. Molecular detection and characterization of tick-borne haemoparasites among cattle on Zanzibar Island, Tanzania. **Acta Tropica**. 2020; 211: 105598. PMID: 32592686
 21. Mohammad Hazzaz Bin Kabir, Onur Ceylan, Ceylan Ceylan, Ayman Ahmed Shehata, Hironori Bando, Mohamed Ibrahim Essa, Xuenan Xuan, Ferda Sevinc, Kentaro Kato. Molecular detection of genotypes and subtypes of *Cryptosporidium* infection in diarrheic calves, lambs, and goat kids from Turkey. **Parasitology International**. 2020; 79: 102163. PMID: 32589940
 22. Weiqing Zheng, Rika Umemiya-Shirafuji*, Qian Zhang, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Hiroshi Suzuki, Haiying Chen, Mingming Liu, Xuenan Xuan*. Porin expression profiles in *Haemaphysalis longicornis* infected with *Babesia microti*. **Frontiers in Physiology**. 2020; 11: 502. PMID: 32508681
 23. Mohammad Hazzaz Bin Kabir, Megumi Itoh, Ayman Ahmed Shehata, Hironori Bando, Yasuhiro Fukuda, Fumi Murakoshi, Atsushi Fujikura, Hiroaki Okawa, Takuto Endo, Akira Goto, Masayuki Kachi, Toshie Nakayama, Yuto Kano, Shoko Oishi, Konosuke Otomaru, Mohamed Ibrahim Essa, Kei Kazama, Xuenan Xuan, Kentaro Kato. Distribution of *Cryptosporidium* species isolated from diarrhoeic calves in Japan. **Parasitology International**. 2020; 78: 102153. PMID: 32504804
 24. Maria Agnes Tumwebaze, Seung-Hun Lee, Paul Franck Adjou Moumouni, Khaled Mohammed-Geba, Sherin K Sheir, Asmaa Galal-Khallaf, Heba M Abd El Latif, Dalia S Morsi, Nora M Bishr, Eloiza May Galon, Benedicto Byamukama, Mingming Liu, Jixu Li, Yongchang Li, Shengwei Ji, Aaron Edmond Ringo, Mohamed Abdo Rizk, Hiroshi Suzuki, Hany M Ibrahim, Xuenan Xuan*. First detection of *Anaplasma ovis* in sheep and *Anaplasma platys*-like variants from cattle in Menoufia governorate, Egypt. **Parasitology International**. 2020; 78: 102150. PMID: 32485226
 25. Weiqing Zheng, Rika Umemiya-Shirafuji*, Shengen Chen, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Hiroshi Suzuki, Shu Yang, Mingming Liu, Xuenan Xuan*. Identification of *Haemaphysalis longicornis* genes differentially expressed in response to *Babesia microti* infection. **Pathogens**. 2020; 9: 378. PMID: 32423088
 26. Eloiza May Galon, Rochelle Haidee Ybanez, Paul FrackAdjou Moumouni, Maria Agnes

- Tumwebaze, Ralph Joselle A Fabon, Mary Ruth R Callanta, Kim Joseph E Labutong, Gloria B Salazar, Mingming Liu, Jixu Li, Benedicto Byamukama, Yongchang Li, Shengwei Ji, Seung-Hun Lee, Adrian P Ybanez, Florencia G Claveria, Xuenan Xuan*. Molecular survey of tick-borne pathogens infecting backyard cattle and water buffaloes in Quezon province, Philippines. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82: 886-890. PMID: 32418944
27. Artemis Efstratiou, Eloiza May Galon, Guanbo Wang, Kousuke Umeda, Daisuke Kondoh, Mohamad Alaa Terkawi, Aiko Kume, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, Huanping Guo, Yang Gao, Seung-Hun Lee, Jixu Li, Paul Franck Adjou Moumouni, Yoshifumi Nishikawa, Hiroshi Suzuki, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan*. *Babesia microti* confers macrophage-babes cross-protective immunity against murine malaria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2020; 10: 193. PMID: 32411624
 28. Benedicto Byamukama, Onur Ceylan, Paul Frank Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Maria Agnes Tumwebaze, Jixu Li, Eloiza May Galon, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Aaron Ringo, Mohamed Rizk, Ferda Sevinc, Xuenan Xuan*. Molecular detection and assessment of risk factors for tick-borne diseases in sheep and goats from Turkey. **Acta Parasitologica**. 2020; 65: 723-732. PMID: 32378157
 29. Mohammad Hazzaz Bin Kabir, Yongmei Han, Seung-Hun Lee, Arifin Budiman Nugraha, Frances Recuenco, Fumi Murakoshi, Xuenan Xuan, Kentaro Kato. Prevalence and molecular characterization of Cryptosporidium species in poultry in Bangladesh. **One Health**. 2020; 9: 100122. PMID: 32368610
 30. 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
 31. 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
 32. 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
 33. 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
34. 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
 35. 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
 36. Ehab Mossaad, Ahmed Ali Ismail, Abdalla Mohame Ibrahim, Peter Musinguzi, Tamar Angara, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma. Prevalence of different trypanosomes in livestock in Blue Nile and West Kordofan States, Sudan. **Acta Tropica**. 2020; 203: 105302. PMID: 31857080
 37. 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

総説

1. Onur Ceylan, Xuenan Xuan, Ferda Sevinc. Primary tick-borne protozoan and rickettsial infections of animals in Turkey. **Pathogens**. 2021; 10(2): 231. PMID: 33669573
2. Mohamed Abdo Rizk, Shimaa Abd El-Sayed El-Sayed, Medhat Nassif, Juan Mosqueda, Xuenan Xuan, Ikuo garashi. 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

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. 令和2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）、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、代表、令和2年度～令和4年度
2. 令和2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、平成30年度～令和3年度
3. 令和2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、平成30年度～令和3年度
4. 令和2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、令和元年度～令和3年度
5. 令和2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、平成30年度～令和2年度
6. 令和2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病の流行実態の解明と制御対策の構築、代表、令和元年度～令和3年度
7. 令和2年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、東南アジアにおける家畜バベシア症に対するゲノム疫学調査と制御戦略の確立、指導教員、令和2年度～令和4年度
8. 令和2年度 日中二国間共同研究事業（農林水産省）、マダニ媒介原虫病制圧に向けた日中共同アプローチ、代表、令和2年度～令和6年度
9. 令和2年度 家畜下痢症の感染制御のための事業（全国競馬・畜産振興会）、代表、令和元年度～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. 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、2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究

2. 正谷 達膳：鹿児島大学獣医学部、酵母ハイブリッド法によるトキソプラズマステージ変換関連転写因子の同定と機能解析、2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
3. Ferda SEVINC：トルコ・セルチューク大学獣医学部、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. Patrick VUDRIKO：ウガンダ・マケレレ大学獣医学部、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2023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. Gabriel ABOGE：ケニア・ナイロビ大学獣医学部、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2023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. Elikira KIMBITA：タンザニア・ソコイネ農業大学獣医学部、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2023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. Athanase BADOLO：ブルキナファソ・ワガドゥーグー大学理学部、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2023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）
8. Oriel THEKISOE：南アフリカ・ノースウェスト大学環境科学部、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2023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）
9. Hany IBRAHIM：エジプト・メノフィア大学理学部、アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2023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、世界で年間約2億人が罹患、年間40万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
- ・ 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、遺伝子編集原虫、免疫賦活抗原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
- ・ トキソプラズマ、ネオスポラ、クリプトスポリジウムの診断方法の開発と疫学調査

3. 2020年度研究の総括

・ トキソプラズマによる流産の病態発症メカニズムの解明

トキソプラズマ症は偏性細胞内寄生性原虫であるトキソプラズマ (*Toxoplasma gondii*) によって引き起こされる人獣共通感染症であり、世界中で発生しています。先天性トキソプラズマ症の症状は胚死・吸収から不顕性感染まで多岐に渡りますが、発症機序は不明です。C-X-Cモチーフのケモカイン受容体3 (CXCR3) は主に Th1 関連免疫細胞に高発現し、免疫細胞の遊走と活性化や妊娠維持にも関与しています。しかし、トキソプラズマの妊娠期感染における CXCR3 の役割や分子機構についてはまだ十分に理解されていません。本研究では CXCR3 欠損マウス (CXCR3^{-/-}) を用いて、妊娠初期のトキソプラズマ感染に対する CXCR3 の役割を調べました。妊娠 3.5 日目 (Gd3.5) に CXCR3^{-/-}マウスと野生型マウスへトキソプラズマを腹腔内接種しました。両感染群ともに妊娠日の進行とともに壊死を呈する胚が増加し妊娠率が低下しましたが、CXCR3^{-/-}感染マウスではより顕著な胚の喪失が認められました。また Gd10.5 において、胎盤組織の原虫感染量は CXCR3^{-/-}マウスで有意に増加しました。更に Gd13.5 の胎盤組織では、野生型感染マウスと比較し CXCR3^{-/-}感染マウスにおいて誘導性一酸化窒素合成

酵素 (iNOS)と CD8 の mRNA 発現量が有意に減少しました。これらの結果は、妊娠初期の CXCR3 依存的な宿主免疫応答がトキソプラズマ感染に対する妊娠維持に重要な役割を果たしていることを示唆しています。本研究結果は、科学雑誌 Infection and Immunity の Spotlight Selection に選出されました。本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED)の研究助成 (19fk0108047h0003, 20fk0108137h0001)で実施しました。(論文リスト 6)

・ トキソプラズマ由来因子による宿主免疫攪乱メカニズムの解明

トキソプラズマは、宿主細胞に侵入するとロプトリー(ROP)またはデンスグラニクル(GRA)と呼ばれる細胞小器官から様々なタンパク質を分泌し、その一部は宿主の免疫応答を攪乱することが知られています。寄生虫分子による宿主免疫の制御メカニズムを明らかにすることで、新たな治療法の開発につながることを期待されています。本研究では、Th1 型免疫応答を誘導する NFκB 経路に焦点を当て、レポータープラスミドを用いて NFκB を活性化する分子のスクリーニングを行い、II 型原虫の GRA7、GRA14、GRA15 の過剰発現が強い活性を示すことを見出しました。そこで本研究では、これら 3 つの分子の比較分析を行い、トキソプラズマ症の病態における NFκB の関与を理解することを目的としました。トキソプラズマの GRA7、GRA14、GRA15 は NFκB を活性化することで宿主免疫応答を活性化し、寄生虫の増殖を抑制的に制御することが明らかとなりました。また、II 型原虫での GRA14 の寄与は限定的なものでしたが、活性型 GRA15 を持たない I 型 RH 株を用いて、マウスに原虫を足蹠内接種したところ、親株では 80%以上のマウスが生存したのに対して GRA14 欠損株で全てのマウスが 4 週間以内に死亡しました。トキソプラズマの病原性は遺伝子型によって大きく異なりますが、その違いは免疫攪乱分子の遺伝子多型性によって規定されます。このことから、GRA15 の活性の低い株では、GRA14 による免疫活性化が宿主の生存に必要であることが示唆されました。トキソプラズマは、感染慢性期に宿主の脳や筋肉内にシストを形成し潜伏感染へと移行します。感染初期に宿主免疫を活性化させ宿主の死を阻止することは、新たな宿主へ伝播する機会の拡大に役立つことから、GRA7、GRA14、GRA15 による NFκB 経路活性化はトキソプラズマの寄生戦略に重要な役割を持つことが示されました。本研究は大阪大学微生物病研究所、エジプト・South Valley 大学との共同研究の成果であり、日本医療研究開発機構 (AMED)の研究助成 (19fk0108047h0003, 20fk0108137h0001)で実施しました。(論文リスト 6)

・ 免疫賦活抗原を用いた病原性原虫に対するワクチン開発

ワクチンは様々な感染症を制御するための重要な手法になります。ネオスポラの感染はウシやヒツジに流産を引き起こすため、畜産業会に経済的な損失をもたらします。我々は、ネオスポラのデンスグラニクルタンパク質 6 (NcGRA6) は免疫賦活能を有していること、非妊娠マウスへの免疫で感染防御効果を誘導できることを確認しています。今回は、妊娠マウスを用いて NcGRA6 ワクチンが原虫の垂直感染を抑制できるか検証しました。PBS あるいは対照抗原を接種したマウスと比較して、NcGRA6 を免疫した母マウスは臨床症状が抑えられ、生まれた子マウスは生存率が高く、脳内原虫数も低く抑えられていました。以上の結果により、NcGRA6 の単独投与で妊娠期のネオスポラ感染を制御できる可能性が示唆されました。本研究は 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)(文部科学省:18H02335)、挑戦的研究(萌芽)(文部科学省:20K21359)の研究助成で実施しました。(論文リスト1)

・ **天然物からの抗原虫薬の探索**

メタサイトフィリンは昆虫病原糸状菌メタリジウムから分離され、我々の研究によりトキソプラズマ感染に対する治療効果が確認されています。今回、メタサイトフィリンのマラリア原虫に対する阻害作用を検証しました。メタサイトフィリンは熱帯熱マラリア原虫 3D7 株とクロロキン耐性 K-1 株に対して増殖抑制効果を示し(それぞれの IC₅₀ 値: 666 nM、605 nM)、特にリング期の原虫に効果的でした。以上より、メタサイトフィリンはマラリア治療薬のリード化合物になる可能性が示されました。本研究は微生物科学研究所、タイ・マヒドン大学との共同研究の成果であり、公益財団法人・寿原記念財団、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4)

・ **天然物からの抗原虫薬の探索**

近年、ハーブ抽出物は創薬にとって重要な天然資源となっています。今回エジプトの植物に着目し、それら抽出物のトキソプラズマに対する阻害効果を検証しました。コロシント(*Citrullus colocynthis*)とゲツケイジュ(*Laurus nobilis*)のメタノール抽出物、レモングラス(lemon grass)とマジョラム(marjoram)の天然油は in vitro における抗トキソプラズマ効果を示しましたが選択毒性は 10 未満でした(それぞれの IC₅₀ 値: 22.86 µg/ml、31.35 µg/ml、4.6 µg/ml、26.24 µg/ml)。一方で、カモミール(*Matricaria chamomilla*)のメタノール抽出物とシトロネラ油(citronella oil)は選択的にトキソプラズマ増殖を阻害しました(それぞれの IC₅₀ 値: 3.56 µg/ml、2.54 µg/ml、それぞれの選択毒性: 130.33、15.02)。以上により、カモミールやシトロネラは抗トキソプラズマ薬の創薬に有用な天然資源になることが示唆されました。本研究はエジプト・マンスーラ大学との共同研究の成果であり、日本医療研究開発機構(AMED)の研究助成(JP19fk0108047)で実施しました。(論文リスト5)

・ **ネオスポラの診断方法の開発**

ネオスポラの感染は病態が慢性化するため、感染急性期に診断する手法の開発が重要となります。今回、尿サンプルからネオスポラ感染を判定できるかを検証しました。ネオスポラ抗原 NcGRA7 と NcSAG1 を用いた ELISA では、急性感染期と慢性感染期のマウスの尿サンプルから特異的な IgG1 や IgG2 を検出することができました。今回の結果により、血液サンプルに加え、尿サンプルもネオスポラ抗体検査に有用であることが示されました。本研究は 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)(文部科学省:18H02335)、JST バリユープログラム(VP29117937665)、伊藤記念財団の研究助成で実施しました。(論文リスト8)

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
- ・ 日本獣医寄生虫学会常任理事・学術担当理事・学術委員会委員長

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

- ・ 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
- ・ 北海道地区大学等安全保障貿易管理ネットワーク幹事

6. 2020 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. Ragab M Fereig, Hanan H Abdelbaky, Yoshifumi Nishikawa*. Vaccination with *Neospora* GRA6 interrupts the vertical transmission and partially protects dams and offsprings against *Neospora caninum* infection in mice. **Vaccines (Basel)**. 2021; 9(2): 155. PMID: 33671937.
2. Shotaro Nakagun, Masao Amano, El-Sayed N El-Alfy, Yoshifumi Nishikawa, Akira Shiozaki, Yuko Tajima, Tadasu K Yamada, Yoshiyasu Kobayashi. Disseminated Toxoplasmosis in a Narrow-Ridged Finless Porpoise (*Neophocaena asiaeorientalis*) with Transplacental Embryonal Transmission. **Journal of Wildlife Diseases**. 2021; 57(1): 205-210. PMID: 33635977.
3. Chinatsu Nakamura, Mingming Liu, Youn-Kyoung Goo, Guohong Zhang, Honlin Jia, Akiko Kumagai, Houshuang Zhang, Jinlin Zhou, Yoshifumi Nishikawa, Xuenan Xuan. Construction of a recombinant vaccinia virus expressing *Babesia gibsoni* thrombospondin-related anonymous protein and evaluation of its immunogenicity in mice. **Tropical Biomedicine**. 2020; 37(4): 1029-1037. PMID: 33612755
4. Arpron Leesombun, Masatomi Iijima, Baldorj Pagmadulam, Banzragchgarav Orkhon, Hiroyasu Doi, Kunio Issiki, Ryuichi Sawa, Coh-Ichi Nihei, Yoshifumi Nishikawa*. Metacytofilin has potent anti-malarial activity. **Parasitology International**. 2021; 81: 102267. PMID: 33307212.
5. Sara T Elazab, Amal F Soliman, Yoshifumi Nishikawa*. Effect of some plant extracts from Egyptian herbal plants against *Toxoplasma gondii* tachyzoites in vitro. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 2021; 83(1): 100-107. PMID: 33268605.

6. Akari Nishida, Rina Ikeda, Hidefumi Furuoka, **Yoshifumi Nishikawa***. CXCR3-Dependent Immune Pathology in Mice following Infection with *Toxoplasma gondii* during Early Pregnancy. **Infection and Immunity**. 2021; 89(2): e00253-20. PMID: 33199353, **Editor's select**
7. Fumiaki Ihara, Ragab M Fereig, Yuu Himori, Kyohko Kameyama, Kosuke Umeda, Sachi Tanaka, Rina Ikeda, Masahiro Yamamoto, **Yoshifumi Nishikawa***. *Toxoplasma gondii* Dense Granule Proteins 7, 14, and 15 Are Involved in Modification and Control of the Immune Response Mediated via NF- κ B Pathway. **Frontiers in Immunology**. 2020; 11: 1709. PMID: 32849602.
8. Ragab M Fereig, **Yoshifumi Nishikawa***. Urological detection of specific antibodies against *Neospora caninum* infection in mice: A prospect for novel diagnostic approach of *Neospora*. **Experimental Parasitology**. 2020; 216: 107942. PMID: 32598889
9. Meng-Hsuan Lin, Tsun-Ai Yu, Chi-Fon Chang, **Yoshifumi Nishikawa**, Chun-Hua Hsu. NMR Resonance Assignments of the Programmed Cell Death Protein 5 (PDCD5) From *Toxoplasma Gondii*. **Biomolecular NMR Assignments**. 2020; 14(2): 277-280. PMID: 32578164.
10. Artemis Efstratiou, Eloiza May S. Galon, Guanbo Wang, Kousuke Umeda, Daisuke Kondoh, Mohamad Alaa Terkawi, Aiko Kume, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, Huanping Guo, Yang Gao, Seung-Hun Lee, Jixu Li, Paul Franck Adjou Moumouni, **Yoshifumi Nishikawa**, Hiroshi Suzuki, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan. *Babesia microti* Confers Macrophage-Based Cross-Protective Immunity Against Murine Malaria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2020; 10: 193. PMID: 32411624.

総説 (*責任著者)

1. El-Sayed El-Alfy, **Yoshifumi NishikawaY***. *Cryptosporidium* Species and Cryptosporidiosis in Japan: A Literature Review and Insights Into the Role Played by Animals in Its Transmission. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82(8): 1051-1067. PMID: 32536636.
2. Rochelle Haidee D Ybañez, Adrian P Ybañez, **Yoshifumi Nishikawa***. Review on the Current Trends of Toxoplasmosis Serodiagnosis in Humans. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2020; 10: 204. PMID: 32457848
3. Ragab M Fereig, **Yoshifumi Nishikawa***. From Signaling Pathways to Distinct Immune Responses: Key Factors for Establishing or Combating *Neospora caninum* Infection in Different Susceptible Hosts. **Pathogens**. 2020; 9(5): E384. PMID: 32429367

著書

1. **西川義文** : トキソプラズマ症、p218-219、家畜伝染病ハンドブック、朝倉書店、2020年11

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 講師として動画を配信した。「すぐにわかる原虫病～世界の原虫病を監視・制圧する～」、国立大学共同利用・共同研究拠点協議会 知の拠点【すぐわかアカデミア】、WEB 公開、https://www.youtube.com/watch?v=iN3IRus_3PQ、2020 年 5 月 15 日

8. 招待講演等

1. Lesson from parasite and ecosystem, 特別講演、5th Workshop on The Present and Future of One Health (human, animal and environment), 日韓研究者交流協会, 日本学術振興会(JSPS)、WEB 公開、2021 年 3 月 5 日

9. 獲得研究費

1. 令和 2 年度 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)、植物内生真菌を用いたケミカルバイオロジーによる抗トキソプラズマ薬の探索(20F20402)、代表、令和 2 年度～令和 4 年度
2. 令和 2 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)、モンゴルにおける小型反芻獣トキソプラズマ症のワクチン開発研究(20KK0152)、代表、令和 2 年度～令和 6 年度
3. 令和 2 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」に関する授業、実習、および演習等の実施及び令和 3 年以降に実施する授業、実習、および演習のトライアル(予行演習・予備試験)等の実施、代表、令和 2 年度
4. 令和 2 年度(2020 年度) 挑戦的研究(萌芽)(文部科学省)、ネオスポラ症に対する次世代ワクチン株の開発と原虫ベクター化への応用展開(20K21359)、代表、令和 2 年度～令和 4 年度
5. 2020 年度 旗影会研究助成、免疫プロテオームによる家畜病原性原虫ネオスポラの新規診断方法の開発、代表、令和 2 年度
6. 令和 2 年度(一財)畜産ニューテック協会研究助成事業・研究調査助成金、ウシの流産の原因となる病原性原虫ネオスポラの防疫方法の開発、代表、令和 2 年度
7. 令和 2 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(AMED)、日本のトキソプラズマ症の感染実態把握とその制御に向けた協創的研究開発、先天性トキソプラズマ症モデル動物の開発と診断用抗原の同定(20fk0108137h0001)、分担、令和 2 年度～令和 4 年度
8. 令和 2 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
9. 令和 2 年度 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、令和元年度～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. 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. 小柴 琢己：福岡大学 理学部化学科、トキソプラズマ感染による宿主・ミトコンドリアの形態変化およびその生理機能への影響、2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
3. 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、2020年4月1日～2021年3月31日、2020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を明らかにしてきました。肝臓からのビタミンEのエフラックスを制御することで循環中のビタミンE濃度を規定するビタミンE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を認めます。この効果は、マラリア原虫のみならずトリパノソーム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。肝臓からのビタミンEのエフラックス抑制効果を発揮する化合物を探索したところ、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。今後の臨床応用へ向けての研究成果が期待されます。

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。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。また、サプリメントとしての植物油の投与は効果的かもしれません。

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、妊娠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. 2020 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。いわゆる、ミトカンとして機能し、抗ガン作用を持つことが報告されているビタミン E の誘導体である α -tocopheryloxy acid の効果をマウスマラリア原虫 *P. yoelii* 17XL を用いて検証したところ宿主の生存率を有意に上昇させ、パラシテミアを有意に減少させる効果を確認した。また、この効果は、トリパノソーマ原虫においても確認された。この化合物は、経口投与が可能であること、血中濃度の持続性が高いこと、および副作用が少ない（ほとんどない）ことが知られており、他の既存薬との併用による、より効果的な治療法、予防法の開発に寄与することが期待される。
- ・ 盲導犬を始めとするイヌの効率的繁殖にとって、凍結精子による人工授精は重要なツールのひとつである。これまでにイヌ精子の凍結保存法の改良について、幾つかの報告をしてきたが、今年度は、凍結抵抗性を示す木々に含まれているフラボノイドのひとつであるケルセチンを凍結保存液に加えて、その効果を検討したところ、凍結融解後の精子の運動性に有意な向上を認め、これを人工授精に供したところ高い受胎能を有することを見出した。
- ・ 以前より、マウス胚の初期発生において、胚盤胞への発生が速い、すなわち胞胚腔の形成が速い胚に雄の胚が有意に多いことが報告されていた。そこで、初期発生のより早い段階で、発生の雌雄差が認められるか否かを検討したところ、精子添加後 47 時間までに第 3 卵割を開始した胚の 90%が雄の胚であることを見出し、有効な雌雄産み分けの方法としての可能性を示した。

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. 2020 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. Yosuke Kawase, Takanori Tachibe, Nobuo Kamada, Kou-Ichi Jishage, Hiroyuki Watanabe, Hiroshi Suzuki. Male advantage observed for in vitro fertilization mouse embryos exhibiting early cleavage. **Reproductive Medicine and Biology**. 2020; 20(1): 83-87. PMID: 33488287.
2. Shinji Harakawa, Takaki Nedachi, Hiroshi Suzuki. Extremely low-frequency electric field suppresses not only induced stress response but also stress-related tissue damage in mice. **Scientific Reports**. 2020; 10(1): 20930. PMID: 33288776.
3. Yuta Kawasaki, Daichi Sakurai, Tatsuya Yoshihara, Mei Tsuchida, Shinji Harakawa, Hiroshi Suzuki. Effect of quercetin on the motility of cryopreserved canine spermatozoa. **Cryobiology**. 2020; 96: 50-54. PMID: 32841644.
4. Yasuyuki Abe, Tomoyoshi Asano, Ichiko Wakasa, Aiko Kume, Sakimi Yokozawa, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki. Cryopreservation of canine spermatozoa using

- a skim milk-based extender and a short equilibration time. **Reproduction in Domestic Animals**. 2020; 55(11): 1548-1553. PMID: 32799370.
5. Weiqing Zheng, Rika Umemiya-Shirafuji, Qian Zhang, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Hiroshi Suzuki, Haiying Chen, Mingming Liu, Xuenan Xuan. *Porin* Expression Profiles in *Haemaphysalis longicornis* Infected with *Babesia microti*. **Frontiers in Physiology**. 2020; 11: 502. PMID: 32508681.
 6. Maria Agnes Tumwebaze, Seung-Hun Lee, Paul Franck Adjou Moumouni, Khaled Mohammed-Geba, Sherin K Sheir, Asmaa Galal-Khallaf, Heba M Abd El Latif, Dalia S Morsi, Nora M Bishr, Eloiza May Galon, Benedicto Byamukama, Mingming Liu, Jixu Li, Yongchang Li, Shengwei Ji, Aaron Edmond Ringo, Mohamed Abdo Rizk, Hiroshi Suzuki, Hany M Ibrahim, Xuenan Xuan. First detection of *Anaplasma ovis* in sheep and *Anaplasma platys*-like variants from cattle in Menoufia governorate, Egypt. **Parasitology International**. 2020; 78: 102150. PMID: 32485226.
 7. Weiqing Zheng, Rika Umemiya-Shirafuji, Shengen Chen, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Hiroshi Suzuki, Shu Yang, Mingming Liu, Xuenan Xuan. Identification of *Haemaphysalis longicornis* Genes Differentially Expressed in Response to *Babesia microti* Infection. **Pathogens**. 2020; 9(5): 378. PMID: 32423088.
 8. Artemis Efstratiou, Eloiza May S Galon, Guanbo Wang, Kousuke Umeda, Daisuke Kondoh, Mohamad Alaa Terkawi, Aiko Kume, Mingming Liu, Aaron Edmond Ringo, Huanping Guo, Yang Gao, Seung-Hun Lee, Jixu Li, Paul Franck Adjou Moumouni, Yoshifumi Nishikawa, Hiroshi Suzuki, Ikuo Igarashi, Xuenan Xuan. *Babesia microti* Confers Macrophage-Based Cross-Protective Immunity Against Murine Malaria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2020; 10: 193. PMID: 32411624.
 9. 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.
 10. 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.

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. 「Basic and Applied Techniques of Reproductive Biotechnology」 Guest Lecture at Department of Biology. Lambung Mangkurat University, Indonesia. 2020年12月4日

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、雌ダニ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

- ・ 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. 2020年度研究の総括

- ・ マダニにおける原虫伝播の分子メカニズム解明を目的として、フタトゲチマダニと *Babesia microti* を解析用モデルとして用い、原虫感染時に発現変動するマダニ遺伝子の同定を試みしました。*B. microti* 感染動物または非感染動物で吸血させたフタトゲチマダニより抽出した Total RNA をサンプルとして、cDNA ライブラリーを構築し Suppression subtractive hybridization (SSH) 法を行いました。ランダムに選択した 302 クローンについて塩基配列解析を行い、*B. microti* 感染により発現が変動したと考えられる遺伝子を選抜し、次いでリアルタイム PCR 法による定量的遺伝子発現解析を実施しました。その結果、Obg-like ATPase 1 (*ola1*)、Calreticulin (*crt*)、vitellogenin 1 (*Vg-1*)、*Vg-2* を含む 8 遺伝子の発現が吸血時に増大すること、*ola1*、*crt*、*Vg-2* を含む 6 遺伝子が *B. microti* 感染時に増大することが明らかになりました。そこで、これらの遺伝子について RNA 干渉法による遺伝子発現抑制を行い、*B. microti* 感染動物で吸血させたフタトゲチマダニについて解析したところ、*Vg-2* 遺伝子発現抑制マダニにおける *B. microti* DNA 量が、対照群のマダニに比べ有意に減少しました（論文リスト 5）。

- ・ 吸血性節足動物における病原体感染に関与する分子の一つに、porin（電位依存性アニオンチャネルタンパク質（VDAC））が知られています。フタトゲチマダニの porin に関する研究はほとんど行われていないことから、本研究では *porin* 遺伝子を単離同定し、バベシア感染における *porin* の関与について検証しました。得られた *porin* cDNA は、849 bp であり、その推定産物は 282 アミノ酸から構成され、推定分子量は 30.4 kDa でした。次に、上記と同様に作出した *B. microti* 感染マダニを用い、*porin* 遺伝子の発現を解析しました。その結果、*B. microti* 感染動物で吸血させた若ダニでは、飽血後 2 および 3 日目において *porin* 遺伝子発現が増大することが分かりました。さらに、*porin* 遺伝子発現抑制マダニでは、飽血後の *B. microti* DNA 量が対照群に比べ有意に減少しました（論文リスト 4）。
- ・ アジア・オセアニア地域を主な生息地とするフタトゲチマダニが近年米国で発見され、米国内におけるフタトゲチマダニの生息域の拡大と媒介疾病発生の懸念が高まっています。米国において発見されたフタトゲチマダニの起源を解析するため、アジア・オセアニア地域由来のフタトゲチマダニとの比較解析が行われました。今回の研究では、日本産フタトゲチマダニ（単為生殖系）の解析サンプルとして、当センターのマダニが用いられました。その結果、現在までに米国で見出されたフタトゲチマダニは単為生殖系であり、東アジアに由来することが示唆されました。現時点では、フタトゲチマダニはウマやイヌなどの動物の輸送によって長距離を移動し、東アジアより米国に侵入したと考えられています。フタトゲチマダニの宿主域は広く、多くの脊椎動物で吸血可能であり、また、原虫・リケッチア・ウイルスといった様々な病原体を動物とヒトに媒介することから、国境・大陸を越えた動物の移動に関し、関連業務従事者、旅行者等へのさらなる注意喚起が世界各地で必要不可欠です（論文リスト 3）。
- ・ 抗マダニワクチンの候補分子として Subolesin に着目し、フタトゲチマダニに対するワクチン効果を検証しました。フタトゲチマダニ Subolesin の組換えタンパク質を作製し、ウサギ（日本白色種）に免疫し、抗体価の上昇を確認した後、フタトゲチマダニ（単為生殖系；雌）の吸血試験を行いました。ワクチン効果検証のパラメーターとして、雌ダニの吸血期間、産卵準備期間、飽血時体重、卵重量を測定し、対照群との比較を行いました。その結果、Subolesin 接種群のマダニでは、飽血時体重および卵重量が対照群に比べて優位に減少しました。また、雌ダニの産下卵については、Subolesin 接種群において卵期間（孵化に至るまでの期間）の有意な延長が認められました。これまで他のマダニ種において Subolesin のワクチン効果が報告されていましたが、今回の研究により、フタトゲチマダニに対しても Subolesin は有効なワクチン候補分子の一つになることが明らかになりました（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）・教育委員
- ・ 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. 2020 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. Seung-Hun Lee, Jixu Li, Paul Franck Adjou Moumouni, Kiyoshi Okado, Weiqing Zheng, Mingming Liu, Shengwei Ji, Soochong Kim, Rika Umemiya-Shirafuji*, Xuenan Xuan*. Subolesin vaccination inhibits blood feeding and reproduction of *Haemaphysalis longicornis* in rabbits. **Parasites & Vectors**. 2020; 13: 478. PMID: 32948229.
2. Yasuyuki Abe, Tomoyoshi Asano, Ichiko Wakasa, Aiko Kume, Sakimi Yokozawa, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki. Cryopreservation of canine spermatozoa using a skim milk-based extender and a short equilibration time. **Reproduction in Domestic Animals**. 2020; 55: 1548-1553. PMID: 32799370.
3. Andrea Egizi, Leslie Bulaga-Seraphin, Erika Alt, Waheed I Bajwa, Joshua Bernick, Matthew Bickerton, Scott R Campbell, Neeta Connally, Kandai Doi, Richard C Falco, David N Gaines, Telleasha L Greay, Vanessa L Harper, Allen C G Heath, Ju Jiang, Terry A Klein, Lauren Maestas, Thomas N Mather, James L Occi, Charlotte L Oskam, Jennifer Pendleton, Marissa Teator, Alec T Thompson, Danielle M Tufts, Rika Umemiya-Shirafuji, Meredith C VanAcker, Michael J Yabsley, Dina M Fonseca. First glimpse into the origin and spread of the Asian longhorned tick, *Haemaphysalis longicornis*, in the United States. **Zoonoses and Public Health**. 2020; 67: 637-650. PMID: 32638553.
4. Weiqing Zheng, Rika Umemiya-Shirafuji*, Qian Zhang, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Hiroshi Suzuki, Haiying Chen, Mingming Liu, Xuenan Xuan*. *Porin* expression profiles in *Haemaphysalis longicornis* infected with *Babesia microti*. **Frontiers in Physiology**. 2020; 11: 502. PMID: 32508681
5. Weiqing Zheng, Rika Umemiya-Shirafuji*, Shengen Chen, Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Hiroshi Suzuki, Shu Yang, Mingming Liu, Xuenan Xuan*. Identification of *Haemaphysalis longicornis* genes differentially expressed in response to *Babesia microti* infection. **Pathogens**. 2020; 9: 378. PMID: 32423088
6. Takahiro Shirozu, Athanase Badolo, Akira Soga, Aya Yoshimura, Yu-Ki Morishita,

Mami Koketsu, Rika-Umemiya Shirafuji, Hisashi Inokuma, Naoaki Yokoyama, Shinya Fukumoto. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method targeting *Theileria* parasites infecting Yezo sika deer. **Parasitology International**. 2020; 77: 102130. PMID: 32325118.

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. 帯広の森サポーターの会 とかちのマダニ現地研修会、帯広の森 H9H10 年植樹区、2020 年 8 月 1 日
2. 原虫病研究センターの紹介およびとかちマダニじてんの公開、畜大 Web フェスティバル、2020 年 12 月 15 日

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

1. 令和 2 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、令和元年度～令和 3 年度
2. 令和 2 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
3. 令和 2 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、令和元年度～令和 3 年度
4. 令和 2 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、令和元年度～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

1. 北海道新聞（2020年5月18日11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」において作成したリーフレット「とかちマダニじてん」英語版についての記事掲載
2. 十勝毎日新聞（2020年5月27日第2社会14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」において作成したリーフレット「とかちマダニじてん」英語版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、マダニのコア共生細菌の介卵伝播機構の解明、2020年4月1日～2021年3月31日、2020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フェリチンの局在と鉄の動態、2020年4月1日～2021年3月31日、2020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. 2020 年度研究の総括

- ・ *Babesia* sp. Mymensingh の宿主範囲と地理的分布: 牛バベシア病を引き起こすのは、*Babesia bovis*、*B. bigemina*、および *B. divergens* だけでした。しかし私たちの最近の研究から、新しく発見された *Babesia* sp. Mymensingh も牛バベシア病を引き起こすことが明らかになりました。そこで本研究では、*Babesia* sp. Mymensingh の宿主範囲と世界規模での地理的分布を確認するために、1) スリランカ、フィリピン、ベトナム、ウガンダ、ブラジル、およびアルゼンチンの計 2,263 頭の牛、2) スリランカとベトナムの計 419 頭の水牛、3) ベトナムの 127 頭の山羊、および 4) ベトナムの 51 頭の羊を含めた合計 2,860 の DNA サンプルに対して *Babesia* sp. Mymensingh に特異的な PCR スクリーニングを行いました。その結果、*Babesia* sp. Mymensingh の感染は、すべての反芻動物で確認されました。また、ブラジルを除くすべての国々の牛から、本バベシア種が検出されました。本研究の成果により、本バベシア種が牛、水牛、羊、および山羊に感染し、かつアジア、アフリカ、南アメリカに広く分布していることが明らかになりました。本論文は、スリランカ (Veterinary Research Institute)、ベトナム (Hue University)、フィリピン (Cebu Technological University)、ウガンダ (Makerere University)、アルゼンチン (Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuaria)、およびブラジル (Conselho Regional de Medicina Veterinária da Bahia) との国際共同研究の成果です (論文リスト 15)。

- ・ モンゴルにおける牛バベシアの疫学調査：牛バベシア病は、経済的被害の大きい家畜の感染症で、アジアでは *B. bovis*、*B. bigemina*、および *Babesia* sp. Mymensingh の感染によって引き起こされます。そこで、モンゴルの 21 州のうち 16 州で飼育されていた計 725 頭の牛の血液 DNA サンプルに対して、それぞれのバベシア種を標的とした PCR スクリーニングを行いました。そこ結果、*B. bovis*、*B. bigemina*、および *Babesia* sp. Mymensingh の全体陽性率が、それぞれ 27.9%、23.6%、および 5.4%であることが明らかになりました。これらの結果より、モンゴルにおける牛バベシアの深刻な汚染実態が明らかとなりました。特に、モンゴルにおける *Babesia* sp. Mymensingh の検出は初めての報告となります。本論文は、モンゴル (Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences) との国際共同研究の成果です (論文リスト 14)。
- ・ バベシア病に対する新たな併用療法の探索：バベシア病は獣医学上ならびに医学上の脅威であり、新薬の開発が求められています。Artesunate ベースの併用療法はマラリアに対して有効であることから、本研究ではその併用療法がバベシア病に対しても有効であるかを検証しました。そこで、Mefloquine、Tafenoquine、Primaquine、Methylene blue、もしくは Lumefantrine を単独で、あるいは Artesunate と組み合わせて、*B. bovis* を用いた試験管内培養法にて評価しました。さらに、*B. microti* に感染したマウスに対して、Mefloquine または Tafenoquine を単独で、あるいは Artesunate と組み合わせて投与し、その治療効果を検証しました。その結果、Lumefantrine を除くすべての薬剤は *B. bovis* に対して有意な増殖阻害活性を示し、さらに Artesunate との組み合わせによりさらにその阻害活性が増加することが分かりました。また、Tafenoquine と Artesunate との併用療法が *B. microti* に対して効果的な治療効果を誘導することも判明しました。本論文は、ブラジル (Laboratory of Malaria Research, Oswaldo Cruz Institute) との国際共同研究の成果です (論文リスト 8)
- ・ *Phyllanthus emblica* 果実由来抽出物による抗ピロプラズマ効果の発見：牛バベシア病と馬ピロプラズマ病は、家畜産業に多大な経済的負担をもたらしています。本研究では、薬用植物として知られている *Phyllanthus emblica* の果実からのエタノール抽出物と水抽出物を調製し、*B. bovis*、*B. bigemina*、*B. divergens*、*B. caballi*、および *T. equi* の *in vitro* 培養評価系にてその活性を評価しました。エタノール抽出物および水抽出物の *in vitro* 培養評価系による IC₅₀ は、それぞれ 6.6~18.3 μg / ml および 18.0~66.6 μg / ml の範囲と、有用な効果を示しました。本研究の成果により、*P. emblica* の果実には抗ピロプラズマ活性を示す因子が含まれることが明らかとなりました。本論文は、スリランカ (Veterinary Research Institute) との国際共同研究の成果です (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「公務員獣医師および民間獣医師実践能力強化プロジェクト」国内支援委員会（JICA/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
- ・ 日本獣医寄生虫学会・教育委員会 委員長

6. 2020 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. Tran Nhat Thang, Thillaiampalam Sivakumar, Hemal Kothalawala, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Naoaki Yokoyama, Madoka Ichikawa-Seki. Geographic origin of *Explanatum explanatum* (Creplin, 1847) Fukui, 1929 detected from domestic water buffaloes in Sri Lanka. **Infection, Genetics and Evolution**. 2021; 91:104806. PMID: 33722696
2. Naoaki Yokoyama, Thillaiampalam Sivakumar, Sanae Ikehara, Yoshihiro Akimoto, Takashi Yamaguchi, Ken Wakai, Kenji Ishikawa, Masaru Hori, Tetsuji Shimizu, Hajime Sakakita, Yuzuru Ikehara. Growth inhibition effect on *Trypanosoma brucei gambiense* by the oxidative stress supplied from low-temperature plasma at atmospheric pressure. **Japanese Journal of Applied Physics**. 2021; 60: 020601.
3. Bumduuren Tuvshintulga, Reiko Kawaguchi, Enkhbaatar Batmagnai, Hemal Kothalawala, Erandi Guanasekara, Orkhon Banzragchgarav, Arifin Budiman Nugraha, Davajav Otgonsuren, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama*. Effects of ethanol and water extracts from *Phyllanthus emblica* fruits on the growth of bovine *Babesia* and equine piroplasma parasites *in vitro* and *Babesia microti* in mice. **Japanese Journal of Veterinary Parasitology**. 2020; 19:

21-29.

4. Gaber El-Saber Batiha, Amany Magdy Beshbishy, Luay M Alkazmi, Eman H Nadwa, Eman K Rashwan, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. *In vitro* and *in vivo* growth inhibitory activities of cryptolepine hydrate against several *Babesia species* and *Theileria equi*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 2020; 14: e0008489. PMID: 32853247
5. Yusuke Tanaka, Altanchimeg Adilbish, Kenji Koyama, Mungun-Ochir Bayasgalan, Noriyuki Horiuchi, Nyamdolgor Uranbileg, Kenichi Watanabe, Baatarjargal Purevdorj, Soyolmaa Gurdorj, Battur Banzragch, Battsetseg Badgar, Keisuke Suganuma, **Naoaki Yokoyama**, Noboru Inoue, Yoshiyasu Kobayashi. Immunohistochemical phenotyping of macrophages and T lymphocytes infiltrating in peripheral nerve lesions of dourine-affected horses. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82: 1502-1505. PMID: 32788501
6. ThankGod E Onyiche, Moeti O Taioe, Nthatisi I Molefe, Abdullahi A Biu, Joshua Luka, Isaac J Omeh, **Naoaki Yokoyama**, Oriel Thekisoe. Equine piroplasmiasis: an insight into global exposure of equids from 1990 to 2019 by systematic review and meta-analysis. **Parasitology**. 2020; 147: 1411-1424. PMID: 32741382.
7. Dickson Stuart Tayebwa, Amany Magdy Beshbishy, Gaber El-Saber Batiha, Mariam Komugisha, Byaruhanga Joseph, Patrick Vudriko, Ramadan Yahia, Luay Alkazmi, Helal F Hetta, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Assessing the Immunochromatographic Test Strip for Serological Detection of Bovine Babesiosis in Uganda. **Microorganisms**. 2020; 8: E1110. PMID: 32722070
8. Leonardo J M Carvalho, Bunduurem Tuvshintulga, Arifin B Nugraha, Thillaiampalam Sivakumar, **Naoaki Yokoyama**. Activities of artesunate-based combinations and tafenoquine against *Babesia bovis in vitro* and *Babesia microti in vivo*. **Parasites & Vectors**. 2020; 13:362. PMID: 32690081
9. Gaber El-Saber Batiha, Dickson Stuart Tayebwa, Amany Magdy Beshbishy, David D N'Da, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Inhibitory effects of novel ciprofloxacin derivatives on the growth of four *Babesia species* and *Theileria equi*. **Parasitology Research**. 2020; 119: 3061-3073. PMID: 32677000
10. Daiki Mizushima, Tovuu Amgalaanbaatar, Batdorj Davaasuren, Mitsunori Kayano, Sandagdorj Naransatsral, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Davaajav Otgonsuren, Batsaikhan Enkhtaivan, Batbold Davkharbayar, Bayasgalan Mungun-Ochir, Purevdorj Baatarjargal, Uranbileg Nyamdolgor, Gurdorj Soyolmaa, Adilbish Altanchimeg, Myagmar Zoljargal, Thu-Thuy Nguyen, Badgar Battsetseg, Banzragch Battur, Noboru Inoue, **Naoaki Yokoyama**, Keisuke Suganuma. Nationwide Serological Surveillance of Non-Tsetse-Transmitted Horse Trypanosomiasis in Mongolia. **Parasite Epidemiology and Control**. 2020; 10:e00158. PMID: 32642568

11. ThankGod E Onyiche, Moeti O Taioe, Ndudim I Ogo, Thillaiampalam Sivakumar, Abdullahi A Biu, Albert W Mbaya, Xuenan Xuan, **Naoaki Yokoyama**, Oriël Thekisoe. Molecular Evidence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Equines and Ticks in Nigeria: Prevalence and Risk Factors Analysis. **Parasitology**. 2020; 17:1-11. PMID: 32605687
12. Takahiro Shirozu, Athanase Badolo, Akira Soga, Aya Yoshimura, Yu-ki Morishita, Mami Koketsu, Rika-Umemiya Shirafuji, Hisashi Inokuma, **Naoaki Yokoyama**, Shinya Fukumoto. Development and Evaluation of a Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method Targeting *Theileria* Parasites Infecting Yezo Sika Deer. **Parasitology International**. 2020; 77: 102130. PMID: 32325118
13. Bumduuren Tuvshintulga, Edouard Vannier, Dickson S Tayebwa, Sambuu Gantuya, Thillaiampalam Sivakumar, Azirwan Guswanto, Peter J Krause, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi. Clofazimine, a Promising Drug for the Treatment of *Babesia Microti* Infection in Severely Immunocompromised Hosts. **The Journal of Infectious Diseases**. 2020; 222: 1027-1036. PMID: 32310272
14. 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
15. 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; 67: 2233-2239. PMID: 32166838
16. Amany Magdy Beshbishy Gaber El-Saber Batiha Luay Alkazmi Eman Nadwa, Eman Rashwan, Ahmed Abdeen, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi, B. Therapeutic Effects of Atranorin towards the Proliferation of *Babesia* and *Theileria* Parasites. **Pathogens**. 2020; 9: E127. PMID: 32079149
17. 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: e0228996. PMID: 32053698
18. 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
19. 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

総説

- 1 ThankGod E Onyiche, Moeti O Taioe, Nthatisi I Molefe, Abdullahi A Biu, Joshua Luka, Isaac J Omeh, **Naoaki Yokoyama**, Oriol Thekisoe. Equine piroplasmiasis: an insight into global exposure of equids from 1990 to 2019 by systematic review and meta-analysis. **Parasitology**. 2020; 147: 1411-1424. PMID: 32741382

著書

1. **横山直明** (分担執筆) (2020) : タイレリア、バベシア、p61-68、獣医学教育モデル・コア・カリキュラム準拠 寄生虫病学 第3版、日本獣医寄生虫学会 監修、緑書房、2020年。

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. OIE 診断依頼の受託「馬のピロプラズマ病」(令和2年度) : 中国、アメリカ、ニュージーランド、オーストラリア、イギリス、ドイツより計 16 件 (75 検体)
2. OIE 診断依頼の受託「牛の小型ピロプラズマ病」(令和2年度) : 国内より計 4 件 (104 検体)
3. OIE 診断試料の提供「馬のピロプラズマ病用の IFAT スライド」(令和2年度) : アルゼンチン、イギリス、フランスへ計 5 件 (1,700 枚)
4. OIE 診断に関するコンサルタント・情報提供「馬のピロプラズマ病、牛のバベシア病」(令和2年度) : アメリカ、イギリス、アイルランド、スペイン、オランダ、スイス、イタリア、ベトナム、ニュージーランド、メキシコ、アルゼンチン、日本、OIE へ計 22 件
5. 「牛のバベシア病」と「馬のピロプラズマ病」に関する OIE technical disease cards を、OIE に提出。2021年1月14日
6. OIE Reference Centres による OIE 活動に関する HP の公開
(<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-reference-centres>)

8. 招待講演等

1. 「Bovine babesiosis ~Role of OIE reference laboratory~」 OIE special seminar、Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Thailand、2020年2月11日
2. 「A success story of SATREPS project: Control of protozoan diseases to improve live-

stock production in Mongolia」 The 89th Annual Meeting of the Japanese Society of Parasitology、Obihiro、2020年5月30-31日（誌上開催）

3. 「An introduction to our collaboration with OIE」 AAVS-OIE-UGM Session on Collaboration between VEEs and International Organizations in Asia、The 1st International Conference of Advanced Veterinary Science and Technologies for Sustainable Development、Faculty of Veterinary Medicine、Universitas Gadjah Mada、Indonesia、2021年3月29日

9. 獲得研究費

1. 平成2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、令和2年度
2. 令和2年度 競走馬生産育成研究助成事業（（一社）日本競走馬協会）「競走馬の円滑な国際流通に向けた馬ピロプラズマ病の学術整備」、代表、令和2年度～令和3年度
3. 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）「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、令和元年度～令和3年度
4. 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2年度（繰越）
5. 令和2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）「スリランカ国で発見された新牛バベシア病に対する簡易診断法の開発研究」、代表、令和2年度～令和3年度
6. 令和2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）「アフリカにおけるマダニ媒介原虫病の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築」（代表 玄学南）、分担、令和2年度～令和5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 五十嵐郁男）、分担、平成30年度～令和3年度（繰越）
9. 令和元年度 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、令和元年度～令和3年度（繰越）

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 Seseerch Institute, Sri Lanka, 2019年7月～、部局間国際学術協定
5. Phung Thang Long: 「Isolation and *In vitro* cultivation of *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *Babesia* sp. Mymensingh, and *Babesia* sp. Hue-1 from cattle in Vietnam」 Hue University of Agriculture and Forestry, Vietnam, 2020年度原虫病研究センター共同研究
6. Sanjay Kumar: 「Development of antigen detection rapid diagnostics for equine piroplasmiasis」 ICAR-National Research Centre on Equines, India, 2020年度原虫病研究センター共同研究

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. 2020 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、バベシア原虫（バベシア・ボービス *Babesia bovis*）での遺伝子改変技術を応用して、原虫由来の宿主赤血球修飾分子を網羅的に解析しました。この解析では、チャンネルと推定される多重遺伝子にコードされた分子のほか、原虫感染赤血球に存在する、ウシ血管内皮細胞への接着分子 VESA を赤血球表面へと輸送するのに機能すると推定される分子を同定し、専門誌に公表いたしました（論文リスト2）。この研究で開発、使用した遺伝子ノックダウン技術やオミクス解析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。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、昨年度に確立した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

ージへの分化を誘導する試験管内培養系法を応用して、RNA シーケンス (RNA-seq) をおこない予備データを取得いたしました。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。

- ・ 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、日本住血吸虫の抗酸化タンパク質ペルオキシレドキシシン 4 (Prx-4) 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)。Prx-4 と、私達がこれまでに、患者診断用の抗原として有用であることを報告している thioredoxine peroxidase 1 (Tpx-1) を ELISA に併用することで、さらに高感度・高精度の日本住血吸虫症診断法が開発が可能になります。また、Tpx-1 およびタンデムリピート抗原 1TR を応用した ELISA が、保虫宿主スイギュウでの診断用抗原としても有用であることを野外調査で確認し、さらに、ヒトでの症例が既に認められなくなった地域においても保虫宿主での寄生虫感染が持続していることを見出しました。これら一連の成果は専門誌に公表いたしました (論文リスト 1)。これらの抗原を 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 (会計担当)
- ・ 日本獣医寄生虫学会理事 (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 89 回日本寄生虫学会大会 (令和 2 年 5 月 30 - 31 日、とかちプラザ : 大会長 : 五十嵐郁男、事務局 : 河津信一郎 : 大会集会中止・誌上開催)

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
- ・ 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. 2020 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. Jose Ma M Angeles*, Yasuyuki Goto, Masashi Kirinoki, Elena A Villacorte, Kharleezelle J Moendeg, Pilarita T Rivera, Yuichi Chigusa, Shin-ichiro Kawazu. Field evaluation of recombinant antigen ELISA in detecting zoonotic schistosome infection among water buffaloes in endemic municipalities in the Philippines. **Frontiers in Veterinary Science**. 2020; 7: 592783. PMID: 33195631
2. Hassan Hakimi*, Thomas J Templeton, Miako Sakaguchi, Junya Yamagishi, Shinya Miyazaki, Kazuhide Yahata, Takayuki Uchihashi, Shin-ichiro Kawazu, Osamu Kaneko, Masahito Asada*. Novel Babesia bovis exported proteins that modify properties of infected red blood cells. **PLOS Pathogens**. 2020; 16(10): e1008917. PMID: 33017449
3. Minh-Anh Dang-Trinh, Jose Ma M Angeles, Kharleezelle J Moendeg, Adrian Miki C Macalanda, Thu-Thuy Nguyen, Luna Higuchi, Shotaro Nakagun, Masashi Kirinoki, Yuichi Chigusa, Yasuyuki Goto, Shin-ichiro Kawazu*. Analyses of the expression, immunohistochemical properties and serodiagnostic potential of *Schistosoma japonicum* peroxiredoxin-4. **Parasites & Vectors**. 2020; 13(1): 436. PMID: 32867818

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. Schistosomiasis Multi-Stakeholder's Forum to Achieve Transmission Interruption by 2025 in the Philippines : Web シンポジウム、Manila, Philippines、2020年9月10日
2. 5th International Livestock Biotechnology Symposium : Web シンポジウム、Manila, Philippines、2020年10月28日

9. 獲得研究費

1. 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3年度
2. 令和元年度 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、令和元年度～令和3年

度

3. 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

1. 受賞者：晴希生 ハッサン（特任研究員）

受賞名：第11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：The expression of a novel multigene family is correlated with channel activity in *Babesia bovis*-infected erythrocytes.

受賞年：2020年9月14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. 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 knock-outs、2019年4月1日～2021年3月31日、2019年度原虫病研究センター共同研究(2019-joint-2 継続)
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 (2020-joint-9)

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コンサルティング、診断、診断用材料の提供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. 2020 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、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、媾疫の流行状況や *T. equiperdum* 寄生動態と臨床症状との関連（病態生理）は未解明です。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。モンゴルは媾疫重度汚染国であると考えられていますが、全国規模での疫学調査は実施されておらず、媾疫の流行状況は不明でした。そこで我々はモンゴル全県を対象とした媾疫を含むウマトリパノソーマ症の血清疫学調査を実施しました。その結果、モンゴル国で飼養されているウマの約 5% にウマトリパノソーマの感染が疑われました。特に他地域に比べてウランバートル首都圏を含むモンゴル中央諸県では血清陽性率が有意に高値を示したため、ウマトリパノソーマ症を効率よく制御するために、同地域を中心とした清浄化対策の必要性が示唆されました（論文リスト 3）（モンゴル国立生命科学大学獣医学研究所との共同研究）。さらに媾疫罹患馬は感染末期ステージに顔面や後肢の麻痺を呈することが知られており、その原因は末梢神経炎に起因するとされていました。その神経炎の機序を探るために様々なステージの媾疫罹

患馬の末梢神経に浸潤する炎症細胞サブタイプを解析したところ、感染初期の症状を示さない馬でもすでに慢性炎症の病態であることが明らかになりました。したがって、感染後のかなり早い段階で末梢神経炎が起きていたことが示唆されました（論文リスト2）（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）。

- ・ 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 *Artemisia sieversiana* 及び *Oxytropis lanata* 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、Chrysoeriol などの含有化合物に抗トリパノソーマ活性を見出しました（論文リスト4, 6）（東北医科薬科大学、モンゴル国立大学との共同研究）。さらにこれまでに抗トリパノソーマ活性を探索した各種化合物について病原ウイルスに対する不活化活性を検証した結果、モンゴル国産薬用植物の一種である *Saxifraga spinulosa* が含有する化合物が新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を含む複数のウイルスを高率に不活化することを明らかにしました（論文リスト5）（帯広畜産大学獣医学研究部門、東北医科薬科大学、モンゴル国立大学との共同研究）。
- ・ スーラ病は *T. evansi* がアブなどの吸血昆虫の吸血によって感染する動物トリパノソーマ症であり、世界各地で流行しています。中でもフィリピンをはじめとする東南アジア諸国はスーラ病の流行地域で、家畜の移入に伴うスーラ病のアウトブレイクが度々報告されています。これまでにフィリピン各地で *T. evansi* の感染が報告されていますが、フィリピン中部の要衝であるセブ島では何度かの家畜原虫病の疫学調査にもかかわらず *T. evansi* は検出されていませんでした。今回我々がセブ島で飼養されているヤギを対象に PCR 法による分子疫学調査を実施した結果、*T. evansi* の遺伝子断片が、約 34%のヤギから検出されました。一般的にヤギは *T. evansi* 感染に耐性を示し不顕性感染状態が持続するため、一見健康なヤギを別地域に移送することでスーラ病のアウトブレイクが引き起こされる可能性があることを示唆しています（論文リスト1）（フィリピンセブ大学、スーダン科学技術大学との共同研究）。

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

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2020 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. Afraa Elata, Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee D Ybanez, Ehab Mossaad, Caro B Salces, Guindolino P Bajenting, Adrian P Ybanez, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma*. First molecular detection and identification of *Trypanosoma evansi* in goats from Cebu, Philippines using a PCR-based assay. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2020; 21: 100414. PMID: 32862917
2. Yusuke Tanaka, Altanchimeg Adilbish, Kenji Koyama, Mungun-Ochir Bayasgalan, Noriyuki Horiuchi, Nyamdolgor Uranbileg, Kenichi Watanabe, Baatarjargal Purevdorj, Soyolmaa Gurdorj, Battur Banzragch, Battsetseg Badgar, Keisuke Suganuma, Naoaki Yokoyama, Noboru Inoue, Yoshiyasu Kobayashi. Immunohistochemical phenotyping of macrophages and T lymphocytes infiltrating in peripheral nerve lesions of dourine-affected horses. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2020; 82(10): 1502-1505. PMID: 32788501
3. Daiki Mizushima, Tovuu Amgalanbaatar, Batdorj Davaasuren, Mitsunori Kayano, Sandagdorj Naransatsral, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Davaajav Otgonsuren, Batsaikhan Enkhtaivan, Batbold Davkharbayar, Bayasgalan Mungun-Ochir, Purevdorj Baatarjargal, Uranbileg Nyamdolgor, Gurdorj Soyolmaa, Adilbish Altanchimeg, Myagmar Zoljargal, Thu-Thuy Nguyen, Badgar Battsetseg, Banzragch Battur, Noboru Inoue, Naoaki Yokoyama, Keisuke Suganuma*. Nationwide serological surveillance of non-tsetse-transmitted horse trypanosomoses in Mongolia. **Parasite Epidemiology and Control**. 2020; 10: e00158. PMID: 32642568
4. Stipan Nurbek, Toshihiro Murata, Keisuke Suganuma, Yoshinobu Ishikawa, Buyanmandakh Buyankhishig, Takashi Kikuchi, Tseesuren Byambajav, Bekh-Ochir Davaapurev, Kenroh Sasaki, Javzan Batkhuu. Isolation and evaluation of trypanocidal activity of sesquiterpenoids, flavonoids, and lignans in *Artemisia sieversiana* collected in Mongolia. **Journal of Natural Medicines**. 2020; 74: 750-757. PMID: 32621255
5. Yohei Takeda, Toshihiro Murata, Dulamjav Jamsransuren, Keisuke Suganuma, Yuta Kazami, Javzan Batkhuu, Duger Badral, Haruko Ogawa, *Saxifraga spinulosa*-derived components rapidly inactivate multiple viruses including SARS-CoV-2. **Viruses**. 2020; 12(7): 699. PMID: 32605306
6. Buyanmandakh Buyankhishig, Toshihiro Murata, Keisuke Suganuma, Javzan Batkhuu, Kenroh Sasaki. Hyaluronidase inhibitory saponins and a trypanocidal isoflavonoid from the aerial parts of *Oxytropis lanata*. **Fitoterapia**. 2020; 145: 104608.

PMID: 32387375

7. 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: 32172907

総説

該当なし

著書

1. 家畜伝染病ハンドブック、朝倉書店、分担執筆
2. 寄生虫病学第3版、緑書房、分担執筆

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. 令和2年度 第46回学術研究助成金(大山健康財団)、ニトロフラントイン誘導体のアフリカトリパノソーマ症新規治療薬としての薬効評価及び作用機序の解析、代表、令和元年度
2. 令和元年度 若手研究(B)(文部科学省)、ゲノム情報に立脚した臨床現場で使用可能なウマトリパノソーマ症鑑別診断法の開発(19K15972)、代表、令和元年度～令和3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)のトリパノソーマ症治療効果の検証、代表、平成30年度～令和3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)のモンゴルウマ調教効率改善の検証、代表、令和2年度～令和3年度

10. 特許申請・取得

1. 特願 2020-081936 「トリパノソーマ症の治療薬及び予防薬」

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. 成田 紘一：東北医科薬科大学・医薬合成化学教室、モンゴル国薬用植物由来 2,5-ジフェニルオキサゾールをリード化合物とした安全性の高い新規トリパノソーマ症治療の開発、2019年4月1日～2020年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
2. Mark Carrington: University of Cambridge, Establishment transgenic manipulation of *Trypanosoma equiperdum* using of CRISPR/Cas9 and RNAi, 2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
3. Jack Sunter: Oxford Brookes University, Deciphering trypanosome parasite tissue tropism and sequestration, 2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
4. Marvin Ardeza Villanueva: Philippine Carabao Center, Investigation on the emergence of resistance among commonly used trypanocidal drugs in the Philippines, 2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
5. Zhe Hu: Harbin Veterinary Research Institute, International collaborative research on the diagnosis of Dourine between the NRCPD and HVRI OIE reference laboratories, 2020年4月1日～2021年3月31日、2020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. 2020年度研究の総括

- ・ 十勝地方の飼い猫から新規トキソプラズマ原虫株を単離し、その性状を解析しました(論文リスト1)。
- ・ スーダンの一部地方の家畜におけるトキソプラズマ陽性率の検討を行いました(論文リスト2)。
- ・ 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3)。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本分子生物学会会員
- ・ 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. 2020 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. Doaa Salman, Motamed E. Mahmoud, Wilawan Pumidonming, Tolubaeva Mairamku, Eiji Oohashi, **Makoto Igarashi**. Characterization of a spontaneous cyst-forming strain of *Toxoplasma gondii* isolated from Tokachi subprefecture in Japan. **Parasitology International**. 2021; 80: 102199. PMID: 32961305
2. Abdelbaset Eweda Abdelbaset, Ehab Mossaad, Ahmed Ali Ismail, Abdalla Mohamed Ibrahim, Xuenan Xuan, Keisuke Suganuma, Tamador E.E. Angara, **Makoto Igarashi**. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Farm Animals in West Kordofan, and Blue Nile states, Sudan. **The Journal of protozoology research**. 2020; 30: 21-26.
3. 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; 82(5): 571-575. PMID: 32224553

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. 2020 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、新規宿主赤血球改変分子を同定しました。(論文リスト 1)。本研究では、2 種類のバベシア・ボビス新規赤血球改変分子を発見し、そのうちの 1 つは、脳性バベシア症に繋がる、原虫感染赤血球の血管内皮細胞接着に関与することが明らかとなりました。今後更なる解析を行うことで、脳性バベシア症発症機構の全容が明らかとなり、バベシア・ボビス感染による重症化を防ぐ方法を開発することが期待されます。また、もう 1 つの分子は感染赤血球表面に存在し、原虫の栄養取り込みに関与することが推定され、同分子を標的としたピロプラズマ病治療薬の開発が期待されます。
- ・ 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。今年度は COVID-19 の影響により現地を訪問しての調査はできませんでした。その替わりとして、タイの共同研究者とオンラインにて連絡を取りながら疫学調査を継続し、定量的 PCR 法にてスイギュウにおけるマラリア原虫の経時的な感染率を解析しました。
- ・ 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3）。さらに、以前診断に協力した、日本人のマラリア症例について報告を行いました（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

- ・ 第89回日本寄生虫学会（2020年5月30、31日）誌上開催。大会事務局担当。
- ・ Philippine-NRCPD annual alumni and scientific meeting（2021年3月27日）オンライン開催

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2020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. Hassan Hakimi, Thomas J Templeton, Miako Sakaguchi, Junya Yamagishi, Shinya Miyazaki, Kazuhide Yahata, Takayuki Uchihashi, Shin-Ichiro Kawazu, Osamu Kaneko, **Masahito Asada***. Novel *Babesia bovis* exported proteins that modify properties of infected red blood cells. **PLOS Pathogens**. 2020; 16(10): e1008917. PMID: 33017449
2. Takashi Sugimoto, Kensuke Takahashi, Kosuke Matsui, **Masahito Asada**, Osamu Kaneko, Koya Ariyoshi. A Japanese man with malaria tests negative for fever after spending 6 months in rural Kenya. **Tropical Medicine and Health**. 2020; 48:52. PMID: 32587463
3. Takahiro Ishizaki, Nattawat Chaiyawong, Hassan Hakimi, **Masahito Asada**, Mayumi Tachibana, Tomoko Ishino, Kazuhide Yahata, Osamu Kaneko. A novel *Plasmodium*

yoellii pseudokinase, PypPK1, is involved in erythrocyte invasion and exflagellation center formation. **Parasitology International**. 2020; 76:102056. PMID: 31953169

総説

該当なし

著書

1. 永宗 喜三郎, 脇 司, 常盤 俊大, 島野 智之編. 寄生虫のはなし. 朝倉書店. 2020. 佐倉孝哉博士と共著でピロプラズマの項目を執筆.

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. リーシュマニア症. 長崎大学熱帯医学研究所 熱帯医学研修課程 2020年4月17日 オンライン配信

8. 招待講演等

1. バベシアによる宿主赤血球改変. 岩手大学大学院獣医学研究科 学際領域特別講義 2020年11月16日 オンライン配信

9. 獲得研究費

1. 令和元年度 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、令和元年度～令和3年度
2. 令和元年度 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、令和元年度～令和3年度
3. 農林水産省 日中二国間共同研究事業、マダニ媒介感染症の征圧に向けた日中協同アプローチ、分担、令和2年度～令和6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 (2020年11月6日) 牛の難病解明へ前進 帯畜大研究者分子2種発見.

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 : バベシア原虫宿主域決定因子の同定、2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究
2. Morakot Kaewthamasorn; Chulalongkorn University : Pathogenicity of the buffalo malaria parasites、2020年4月1日～2021年3月31日、2020年度原虫病研究センター共同研究