

## 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. 2021 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、マラリア原虫のハマダラカからマウスへの感染機構に重要な遺伝子を同定すると共に、ハマダラカへの感染機構の解明、ハマダラカの新規生物学的防除法の検証を行いました（論文リスト 3,5,7）。
- ・ 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3年度においては、その中でもブラストシスティス、腸管出血性大腸菌などについて調査を行いました。ブラストシスティスについてはヒトの症例からは未検出のサブタイプ14が優占種であり現時点では公衆衛生上のリスクは低いこと、腸管出血性大腸菌についてはヒトで集団感染が頻発する血清型が分離され極めて高い公衆衛生上のリスクを持つことが確認されました（論文リスト1,4）。

- ・ 犬糸状虫は獣医学上、イヌで最も重要な問題となっている寄生虫です。定期的に駆虫を行う予防法はあるものの、生涯に渡る抗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意思に依存するため、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3年度についてはその一貫としてモンゴル獣医学研究所との共同研究により、犬糸状虫症の疫学調査を行い、犬糸状虫症および近縁のフィラリアの分布を明らかにしました（論文リスト6,9）。

#### 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・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. 2021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. Eiki Yamasaki, Shinya Fukumoto\*. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Yezo sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in the Tokachi sub-prefecture of Hokkaido, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2022 Apr 7. PMID: 35387920.
2. Naoaki Shinzawa, Chisako Kashima, Hiroka Aonuma, Kei Takahashi, Masayuki

- Shimajima, **Shinya Fukumoto**, Erisha Saiki, Daisuke S Yamamoto, Shigeto Yoshida, Hiroyuki Matsuoka, Yoshihiro Kawaoka, Hirotaka Kanuka. Generation of transgenic mosquitoes harboring a replication-restricted virus. **Frontiers in Tropical Diseases**. 2022. In pres.
3. Takahiro Shirozu, Nobuaki Seki, Akira Soga, **Shinya Fukumoto\***. Evaluation of mosquitocidal efficacy of Scorpion Toxin Tf2 from *Tityus fasciolatus* against *Anopheles stephensi* mosquitoes. **Medical Entomology and Zoology**. 2021; 72(4): 1–5.
  4. Takahiro Shirozu, Yu-ki Morishita, Mami Koketsu, **Shinya Fukumoto\***. Molecular detection of *Blastocystis* sp. subtype 14 in the Yezo sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Hokkaido, Japan. **Veterinary Parasitology-Regional Studies and Reports**. 2021 Jul; 25: 100585. PMID: 34474780.
  5. Kazuhiko Nakayama, Yuta Kimura, Yu Kitahara, Akira Soga, Asako Haraguchi, Jun Hakozaiki, Makoto Sugiyama, Kodai Kusakisako, **Shinya Fukumoto**, Hiromi Ikadai. Role of *Plasmodium berghei* ookinete surface and oocyst capsule protein, a novel oocyst capsule-associated protein, in ookinete motility. **Parasites & Vectors**. 2021 Jul 21; 14(1): 373. PMID: 34289894.
  6. Janchivsengee Bilegjargal, Izabella Rzaad, **Shinya Fukumoto**, Boldbaatar Chinchuluun, Sukhbaatar Lkhagvatseren, Sambuu Gantuya, Gansukh Azjargal, Zayat Batsukh, Tserendorj Munkhjargal. Microscopic and molecular detection of *Deraiphoronema evansi* (Lewis, 1882) in domestic Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) of Mongolia. **Parasitology International**. 2021 Jun 12; 84: 102404. PMID: 34129934.
  7. Akira Soga, Takahiro Shirozu, **Shinya Fukumoto\***. Glyoxalase pathway is required for normal liver-stage proliferation of *Plasmodium berghei*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 2021 Apr 16; 549: 61–66. PMID: 33667710.
  8. 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 Feb; 80: 102222. PMID: 33137508.
  9. Ankhbayar Jambaldorj, **Shinya Fukumoto**, Munkhjargal Tserendorj. Surveillance of canine filarial infection in Ulaanbaatar city. **Mongolian Journal of Agricultural Sciences**. 2021; 32(1). 1–4.

## 総説

該当なし

## 著書

該当なし

## 7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

## 8. 招待講演等

1. 第 73 回日本衛生動物学会大会病害動物の生理分子生物談話会「病原体を媒介しない蚊による犬糸状虫症制御」、2021 年 4 月 16 日

## 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

1. 受賞者：水関 実法子 (学部 5 年)  
受賞名：第 67 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会 大会長賞  
受賞テーマ：重症複合型免疫不全マウスを用いた犬糸状虫マイクロフィラリア血症移植モデルの開発  
受賞年：2021 年 10 月 2 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. 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。バベシアに感染し、回復した動物は同じ種または近縁種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. 2021 年度研究の総括

- ・ 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。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、マラリアに対する新薬として上市したタフェノキンの抗犬バベシア症作用について調べてみました。犬を用いた治療効果試験では、1回か2回投与するだけで顕著な治療効果が認められました。また、特に目立つ副作用は認められませんでした。今後は、フィールドにおける臨床試験の実施が待たれています (論文リスト 19)。
- ・ 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 TgGRA9 の機能解析を行いました。いままで先行研究により TgGRA9 の存在は判明しました

が、その機能は不明のままでした。そこで、本研究では CRISPR/Cas9 系を用いて RH 株（遺伝子型 I）と PLK 株（遺伝子型 II）の TgGRA9 ノックアウト虫体を作成しました。マウスモデルにおけるこれら TgGRA9 欠損株は、遺伝子型特異的病原性を示しました。RHΔGRA9 はその親株（野生型）との間に病原性の変化が認められなかったが、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。これらの結果より、マウスモデルにおいて TgGRA9 は遺伝子型特異的に病原性に関わっていることが示唆されました。さらに、TgGRA9 欠損 PLK 株で予防接種したマウスに強毒の RH 株の攻撃したところ、完全防御されることが明らかとなりました（論文リスト 24）。

- ・ブルキナファソ、フィリピン、トルコ、ウガンダ、スーダン、タイ、エジプトなどにおける家畜（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 1、8、13、14、16、17、18）。

#### 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. 2021 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. Paul Franck Adjou Moumouni, Germaine Lim-Bamba Minoungou, Christian Enonkpon Dovonou, Eliza May Galon, Artemis Efstrtiou, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki, Xuena Xuan\*. A survey of tick infestation and tick-borne piroplasm infection of cattle in Oudalan and Seno provinces, northern Burkina Faso. **Pathogens**. 2022; 11: 31. PMID: 35055979.

2. Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama, Kozo Fujisaki, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan, Rika Umemiya-Shirafuji. Molecular detection of *Borrelia burgdorferi* (*sensu lato*) and *Rickettsia* spp. in hard ticks distributed in Tokachi District, eastern Hokkaido, Japan. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**. 2021; 1: 100059. PMID: 35284860.
3. Kidaka Taishi, Tatsuki Sugi, Kyoko Hayashida, Yutaka Suzuki, Xuenan Xuan, Jitender P Dubey, Junya Yamagishi. TSS-seq of *Toxoplasma gondii* sporozoites revealed a novel motif in stage-specific promoters. **Infection, Genetics and Evolution**. 2022; 98: 105213. PMID: 35041968.
4. Tawin Inpankaew, Thi Thuy Nguyen, Burin Nimsuphan, Chanya Kengradomkij, Ketsarin Kamiyingkird, Wissanuwat Chimnoi, Boy Boonaue, Xuenan Xuan. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in northeastern and southern Thailand. **Filia Parasitologica**. 2021; 68: 028. PMID: 34994346.
5. Shengwei Ji, Mingming Liu, Loiza May Galon, Mohamed Abdo Rizk, Bumduuren Tuvshintulga, Jixu Li, Iqra Zafar, Yae Hasegawa, Aiko Iguch, Naoaki Yokoyama, Xuenan Xuan\*. Inhibitory effect of naphthoquine phosphate on *Babesia gibsoni* *in vitro* and *Babesia rodhaini* *in vivo*. **Parasites & Vectors**. 2022; 15: 10. PMID: 34991686.
6. Yongchang Li, Mohamed Abdo Rizk, Eloiza May Galon, Mingming Liu, Jixu Li, Aaron Edmond Ringo, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Maria Agnes Tumwebaze, Byamukama Benedicto, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi, Bayin Chahan, Xuenan Xuan\*. Discovering the potent inhibitors against *Babesia bovis* *in vitro* and *Babesia microti* *in vivo* by repurposing the natural product compounds. **Frontiers in Veterinary Science**. 2021; 8: 762107. PMID: 34389492.
7. Rawan A Satti, Eman A Awadelkareem, Keisuke Suganuma, Bashir Salim, Noboru Inoe, Xuenan Xuan, Suheir Rehan, Ehab Mossaad. Cattle anaplasmosis and babesiosis: Major tick-borne diseases affecting the cattle industry in Khartoum State, Sudan. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2021; 26: 10000632. PMID: 34684266.
8. Eloiza May Galon, Adrian Miki Macalanda, Mary Margaret Garcia, Chrysler James Ibasco, Anatolio Garvida, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Yae Hasegawa, Mingming Liu, Rochelle Haidee Ybanez, Rika Umemiya-Shirafuji, Adrian Ybanez, Florencia Claveria, Xuenan Xuan\*. Molecular identification of selected tick-borne protozoan and bacterial pathogens in thoroughbred racehorses in Cavite, Philippines. **Pathogens**. 2021; 10: 1318. PMID: 34684266.
9. Bumduuren Tuvshintulga, Thillaiampalam Sivakumar, Arifin Budiman Nugraha, Believe Ahedor, Enkhbaatar Batmagnai, Davaajav Otgonsuren, MingMing Liu, Xuenan

- Xuan**, Ikuo Igarashi, Naoaki Yokoyama. Combination of clofazimine and atovaquone as a potent therapeutic regimen for the radical cure of *Babesia microti* infection in immunocompromised hosts. **Journal of Infectious Diseases**. 2022; 225: 238. PMID: 34664651.
10. Rika Umemiya-Shirafuji, Jinlin Zhou, Min Liao, Badgar Battsetseg, Damdinsuren Boldbaatar, Takeshi Hatta, Thasaneeya Kuboki, Takeshi Sakaguchi, Huey Chee, Takeshi Miyoshi, Xiaohong Huang X, Naotoshi Tsuji, **Xuenan Xuan**, Kozo Fujisaki. Data from expressed sequence tags from the organs and embryos of parthenogenetic *Haemaphysalis longicornis*. **BMC Research Notes**. 2021; 14: 326. PMID: 34433501.
  11. Shengwei Ji, Mingming Liu, Eloiza May Galon, Mohamed Abdo Rizk, Jixu Li, Yongchang Li, Iqra Zafar, Ikuo Igarashi, **Xuenan Xuan\***. *In vitro* screening of novel anti-*Babesia gibsoni* drugs from natural products. **Parasitology International**. 2021; 85: 102437. PMID: 34389492.
  12. Osamu Kawase, Hisashi Iwaya, Yoshiya Asano, Hiromoto Inoue, Seiya Kudo, Motoki Sasahira, Nobuyuki Azuma, Daisuke Kondoh, Madoka Ichikawa-Seki, **Xuenan Xuan**, Kimitoshi Sakamoto, Hikaru Okamoto, Jinaki Nakadate, Wataru Inoue, Ikuma Saito, Miyu Narita, Kiyono Sekii, Kazuya Kobayashi. Identification of novel yolk ferritins unique to planarians: planarians supply aluminum rather than iron to vitellaria in egg capsules. **Cell and Tissue Research**. 2021; 386: 391. PMID: 34319433.
  13. Onur Ceylan, Byamukama Benedicto, Ceylan Ceylan, Maria Tumwebaze, Eloiza May Galon, Mingming Liu, **Xuenan Xuan\***, Secinc F. A survey on equine tick-borne diseases: The molecular detection of *Babesia ovis* DNA in Turkish racehorses. **Ticks and Tick-Borne Diseases**. 2021; 12: 101784. PMID: 34280696.
  14. Benedicto Byamukama, Patrick Vudriko, Maria Tumwebaze, Dickson Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Martin Angwe, Jixu Li, Eloiza May Galon, Aaron Ringo, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Mohamed Abdo Rizk, Paul Frank Moumouni, Seung-Hun Lee, Ferda Sevinc, **Xuanan Xuan\***. Molecular detection of selected tick-borne pathogens infecting cattle at the wildlife-livestock interface of Queen Elizabeth National Park in Kasese District, Uganda. **Ticks and Tick-Borne Diseases**. 2021; 12: 101771. PMID: 34214889.
  15. Huanping Guo, Yang Gao, David D N'Da, **Xuenan Xuan\***. *In vitro* anti-*Toxoplasma gondii* efficacy of synthesised benzyltriazole derivatives. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. 2021; 88: e1. PMID: 34212734.
  16. Ehab Mossaad, Alex Gaithuma, Yassir O. Mohamed, Keisuke Suganuma, Rika Umemiya-Shirafuji, Yuma Ohari, Bashir Salim, Mingming Liu, **Xuenan Xuan\***. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens in cattle from Khartoum state and East Darfur state, Sudan. **Pathogens**. 2021; 10: 580. PMID: 34068782.
  17. Thom Do, Ruttayaporn Ngasaman, Vannarat Saechan, Opal Pitaksakulrat, Mingming

- Liu, Xuenan Xuan\*, Tawin Inpankaew. First molecular detection of *Babesia gibsoni* in stray dogs from Thailand. **Pathogens**. 2021; 10: 639. PMID: 34067366.
18. Hany M Ibrahim, Eloiza May Galone, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Mingming Liu, Khaled Mohammed-Geba, Sheir K Sheir, Asmaa Galal-Khallaf, Heba M Abd El Latif, Dalia S Morsi, Nora M Bishr, Xuenan Xuan\*. Serological survey of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle and water buffaloes from Menoufia province, Egypt. **Acta Parasitologica**. 2021; 66: 1458. PMID: 34043120.
  19. Mingming Liu, Shengwei Ji, Daisuke Kondoh, Eloiza May Galon, Jixu Li, Mizuki Tomihari, Masashi Yanagawa, Michihiro Tagawa, Mami Adachi, Masahito Asada, Ikuo Igarashi, Aiko Iguchi, Xuenan Xuan\*. Tafenoquine is a promising drug candidate for the treatment of babesiosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2021; 65: e0020421. PMID: 33941516.
  20. Remigiusz Galecki, Xuenan Xuan, Tadeusz Bakula, Jerzy Jaroszewski. Molecular characterization of *Lipoptena fortisetosa* from environmental samples collected in North-Eastern Poland. **Animals (Basel)**. 2021; 11: 1093. PMID: 33921225.
  21. Bumduuren Tuvshitulga, Arifin Budiman Nugraha, Tomoka Mizutani, Mingming Liu, Takahiro Ishizaki, Thillaiampalam Sivakumar, Xuenan Xuan, Naoaki Yokoyama, Ikuo Igarashi. Development of a stable transgenic *Theileria equi* parasite expressing an enhanced green fluorescent protein/blastocidin S deaminase. **Scientific Reports**. 2021; 11: 9107. PMID: 33907262.
  22. Yukihiro Goto, Rie Kamihira, Yoichi Nakao, Motohiro Nonaka, Ryo Takano, Xuenan Xuan, Kentaro Kato. The efficacy of marine natural products against *Plasmodium falciparum*. **Journal of Parasitology**. 2021; 107: 284. PMID: 33844839.
  23. Remigiusz Galecki, Jerzy Jaroszewski, Tadeusz Bakula, Eloiza May Galon, Xuenan Xuan. Molecular detection of selected pathogens with zoonotic potential in deer kebs (*Lipoptena fortisetosa*). **Pathogens**. 2021; 10: 324. PMID: 33801932.
  24. 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.
  25. 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.
  26. Onur Ceylan, Benedicto Byamukama, Ceylan Ceylan, Eloiza May Galon, Mingming Liu, Tatsunori Masatani, Xuenan Xuan\*, Ferda Sevinc. Tick-borne hemoparasites of sheep: A molecular research in Turkey. **Pathogens**. 2021; 10: 162. PMID: 33546428.

27. 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.
28. 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.
29. 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: 151149. PMID: 33421842.
30. Shima 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.

## 総説

1. Mingming Liu, Ikuo Igarashi I, Xuenan Xuan\*. *Babesia gibsoni*. **Trends in Parasitology**. 2022; S1471-4922(22) 00058-7. PMID: 35339362.
2. Onur Ceylan, Xuenan Xuan, Ferda Sevinc. Primary tick-borne protozoan and rickettsial infections of animals in Turkey. **Pathogens**. 2021; 10(2): 231. PMID: 33669573.

## 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. ベトナム国立農業大学が主催した「マダニとマダニ媒介感染症に関する国際ワークショップ」に参加し、「原虫病研究センターの概要の研究活動内容」と題した招待講演を行った。2021年8月26日（オンライン開催）

## 9. 獲得研究費

1. 令和3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3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
3. 令和3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3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3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
6. 令和3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
7. 令和3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

## 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：岐阜大学応用生物科学部、トキソプラズマのプログラム細胞死メカニズム解明に向けた研究、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62万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異常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・化合物ライブラリー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. 2021 年度研究の総括

- ・ **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**  
「トキソプラズマ感染に対するマウス脳組織の免疫反応におけるケモカイン受容体 CXCR3 の役割」  
トキソプラズマは脳内に感染して脳機能に様々な障害を与えられていると考えられていますが、その全貌は解明されていません。以前の我々の研究では、マウス脳組織を用いた網羅的トランスクリプトーム解析により、感染依存的にケモカイン受容体 CXCR3 とそのリガンド CXCL10 の発現が上昇することが明らかにされています (Tanaka et al., Infect Immun. 2013)。今回、CXCR3 欠損マウスを用いて、トキソプラズマ感染に対する脳細胞の応答性を解析しました。野生型マウスと比較して、CXCR3 欠損マウスは感染による臨床症状が増悪し、脳内原虫数と脳組織の炎症が増加していました。ミクログリアとアストロサイトの初代培養細胞を作製し、原虫感染による遺伝子発現の解析を実施しました。その結果、CXCR3 かつ原虫感染依存的な遺伝子として、免疫反応に関与する一連の遺伝子が見出されました。今回の結果は、脳内原虫のコントロールにはグリア細胞の CXCR3 依存的な免疫反応が一定の役割を担っていることを

示しています。本研究は South Valley 大学（エジプト）、東京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(21fk0108137h)と科研費（2011/LS003, JP24880006, JP17K17570, JP15K15118, 17K19538, 20KK0152, 20K21359, 21H02353）で実施しました（論文リスト8）。

#### ・ 異常産の病態発症メカニズムの解明

##### 「ネオスポラのデンスグラニクル7は垂直感染に関与する」

ネオスポラは牛の流産の原因となり、その対策には妊娠期の原虫感染による垂直感染の仕組みを理解することが必要です。我々の以前の研究で、ネオスポラのデンスグラニクル7（NcGRA7）を欠損させるとマウスにおける原虫の病原性が低下することが明となっています（Nishikawa et al., Appl Environ Microbiol. 2018）。今回、妊娠期感染モデルを用いて、垂直感染における NcGRA7 の役割を解析しました。親株原虫と比較して、NcGRA7 欠損株の垂直感染率の低下が認められました。組織学および生化学的解析により、NcGRA7 欠損株の感染では胎盤領域での炎症反応が亢進しており、原虫が障害を受けていたことが推測されました。従って、NcGRA7 は原虫の垂直感染を成立させる重要な分子であることが示唆されます。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 B（一般）（文部科学省：21H02353, 18H02335）、挑戦的研究(萌芽)（文部科学省：20K21359）の研究費で実施しました（論文リスト4）。

##### 「Toll 様受容体 2（TLR2）は妊娠後期のトキソプラズマ 感染により引き起こされる異常妊娠に関与する」

妊娠期のトキソプラズマ感染は流産、死産、早産の原因となることが知られていますが、その発症メカニズムの詳細は明らかにされていません。Toll 様受容体 2（TLR2）は免疫細胞や胎盤に発現していますが、トキソプラズマの妊娠期感染における TLR2 の役割は分かっていません。妊娠後期のトキソプラズマ感染マウスモデルで解析したところ、野生型マウスでは異常妊娠が認められますが、TLR2 欠損マウスでは異常妊娠が有意に減少しました。TLR2 欠損マウスでは感染に対する炎症性反応が減弱しており、胎盤への障害が起りにくいことが推測されました。今回の結果により、妊娠期の TLR2 への刺激はトキソプラズマ 感染病態を悪化させ、胎盤の機能低下につながると考えられます。従って、先天性トキソプラズマ症に対する TLR2 の阻害による新たな治療法の開発につながることが期待されます。本研究は South Valley 大学（エジプト）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(21fk0108137h)と科研費（20KK0152, 20K21359, 21H02353）で実施しました（論文リスト11）。

#### ・ 宿主免疫攪乱メカニズムの解明

##### 「トキソプラズマ由来ペロオキシレドキシシンの病原性への関与」

トキソプラズマはヒトに対して病原性を示し、畜産業にも莫大な経済的損失を与えています。本感染症を制御するためには、病原性の理解に基づいた科学的なアプローチが重要になります。

我々の以前の研究で、トキソプラズマ由来ペルオキシレドキシシンである TgPrx1 と TgPrx3 の組換えタンパク質は免疫活性化作用があることが分かっていますが (Fereig et al., PLoS One. 2017; Fereig et al., Parasitol Int. 2016) 、生理的な役割は不明でした。本研究では CRISPR-Cas9 の遺伝子編集技術により TgPrx1 と TgPrx3 の欠損原虫株を作出し、病原性解析を行いました。その結果、TgPrx3 欠損株は親株原虫と比較して過剰な炎症反応を誘導し、マウスにおける病原性が増加していました。この結果は、TgPrx3 特異的な免疫反応がトキソプラズマの病原性制御に重要であることを示唆しており、ワクチン開発への応用が期待できます。本研究は South Valley 大学 (エジプト) 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(21fk0108137h)と国際共同研究 B (文部科学省: 20KK0152) の研究費で実施しました (論文リスト 3)。

#### ・ 病原性原虫に対するワクチン開発

##### 「脂質ナノ粒子を基盤技術としたトキソプラズマのデンスグラニクル 15 搭載 DNA ワクチンの感染防御効果」

トキソプラズマはヒトと家畜動物に感染し公衆衛生的にも問題視されており、安全で有効なワクチンの開発が望まれています。今回、細胞質で自己崩壊するようデザインされた脂質ナノ粒子を基盤とし、トキソプラズマ用 DNA ワクチンの開発を試みました。以前の我々の研究で免疫活性化能を有する原虫遺伝子としてデンスグラニクル 15 (TgGRA15) を見出しており (Ihara et al., Front Immunol. 2020) 、前述のナノ粒子に TgGRA15 遺伝子を搭載してマウスの感染実験系で評価しました。本 DNA ワクチン接種により抗原特異的な免疫反応が誘導され、ワクチン接種マウスは感染抵抗性を示しました。本結果により、新型 DNA ワクチン開発への展開が期待されます。本研究は Chattogram Veterinary and Animal Sciences University (バングラデシュ) 、千葉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(21fk0108137h)と国際共同研究 B (文部科学省: 20KK0152) の研究費で実施しました (論文リスト 6) 。

#### ・ 天然物からの抗原虫薬の探索

##### 「エジプトの野生薬用植物の抗マラリア作用」

薬用植物は、感染症治療のための代替薬物資源として成功裏に使用されています。マラリアの新しい治療法を見つけることは困難であり、砂漠由来の野生植物の抽出物は、様々な薬用利用が報告されています。本研究では、エジプト砂漠の 13 種類の植物から抽出物を調整し、抗マラリア効力を評価しました。その結果、*Trichodesma africanum* の抽出物に最も効果的な抗マラリア活性を確認しました (IC<sub>50</sub>: 11.7 µg/ml、選択毒性: 35.2) 。今回の結果は、エジプトの砂漠に生息する植物は代替薬物資源として有用であることを示唆しています。本研究は South Valley 大学 (エジプト) 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(20fk0108137h)と国際共同研究 B (文部科学省: 20KK0152) で実施しました (論文リスト 1) 。

### 「抗生物質スパールソマイシンの抗マラリア作用」

ペプチジルトランスフェラーゼ阻害剤として作用する抗生物質スパールソマイシンの抗マラリア活性を解析しました。熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmosium falciparum* 3D7 株および K1 株) に対して、スパールソマイシンはそれぞれ 12.07 および 25.43 nM の IC<sub>50</sub> 値を示しました。*P. falciparum* 3D7 をスパールソマイシンで処理すると、形態変化が起こり、リング期の原虫が阻害され、化合物を除去した後でも増殖阻害を維持しました。マウスマラリア原虫 (*P. yoelii* 17XNL 株および *P. berghei* ANKA 株) を用いたマウス感染実験でも、スパールソマイシンの治療効果を確認することができました。今回の結果により、スパールソマイシンをリード化合物とした新たな抗マラリア薬の開発が期待されます。本研究は微生物化学研究所との共同研究の成果であり、特別研究員奨励費(文部科学省:20F20402)、原虫病研究センター共同研究費(2020-joint-14, 27-joint-6, 28-joint-3, 29-joint-4) で実施しました(論文リスト 2)。

### 「トキソプラズマ感染に対する新たな薬剤：ポリエーテルイオノホア・キジマイシン」

ポリエーテル系抗生物質は反芻動物の飼料に広く用いられ、寄生虫病のкокシジウム症やマラリアに効果があるとされている。今回、ポリエーテル系抗生物質のキジマイシンについて、トキソプラズマ症に対する効果を検証した。キジマイシンは宿主細胞内と宿主細胞外のトキソプラズマに対する殺滅効果を示し (IC<sub>50</sub>: 宿主細胞内 45.6 ± 2.4 nM、宿主細胞外 216.6 ± 1.9 pM)、原虫の膨化を誘導した。別のポリエーテル系抗生物質のモネンシンと同様に、キジマイシンは原虫のミトコンドリア膜電位を減少させ、活性酸素種の産生を増加させることで障害を与えることが明らかとなった。また、キジマイシンは感染マウスに対する治療効果を示した。今回の結果により、キジマイシンが家畜のトキソプラズマ症の治療薬として有効である可能性が示された。本研究はマヒドン大学(タイ)、微生物化学研究所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(21fk0108137h)、科研費(20KK0152, 26670204)、原虫病研究センター共同研究費(2020-joint-14, 27-joint-6, 28-joint-3, 29-joint-4) で実施しました(論文リスト 9)。

### 「モンゴルの薬草由来化合物ライブラリーを利用した抗原虫薬開発への可能性」

生物多様性を有する国では有望な天然生物資源が存在します。モンゴルの薬草は創薬資源として大きな可能性を秘めており、今回はモンゴルの薬草由来化合物 179 種のマラリア原虫とトキソプラズマ に対する増殖阻害活性を評価しました。マラリア原虫を阻害する化合物として、brachangobinan A (IC<sub>50</sub> 2.62μM)、oxazole (IC<sub>50</sub> 3.58μM)、chryso splenetin (IC<sub>50</sub> 3.78 μM)、4,11-di-O-galloylbergenin (IC<sub>50</sub> 3.87μM)、2-(2',5'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole (IC<sub>50</sub> 6.94μM) が同定されました。また、トキソプラズマを阻害する ricin (IC<sub>50</sub> 12.94 μM)も同定されました。今後は、これら化合物をリード化合物とした創薬展開が期待されます。本研究はモンゴル国立大学、獣医学研究所(モンゴル)、東北医科薬科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(20fk0108137h)と科研費(20KK0152) で実施しました(論文リスト 14)。

### 「モンゴル植物由来エキスのマラリア原虫とトキソプラズマに対する抑制効果」

生物多様性を有する国では有望な天然生物資源が存在します。モンゴルの薬草は創薬資源として大きな可能性を秘めており、今回はモンゴルの薬草由来エキス 43 種のマラリア原虫とトキソプラズマ に対する増殖阻害活性を評価しました。マラリア原虫を阻害する植物エキスとして、Galatella dahurica leaf + flower, Leonurus deminutus leaf + flower, Oxytropis trichophysa aerial part, Schultzia crinita whole plant, Le の 6 種が同定されました。また、トキソプラズマを阻害する Amaranthus retroflexus root も同定されました。今後は、これら植物エキスをシーズとした創薬展開が期待されます。本研究はモンゴル国立大学、獣医学研究所（モンゴル）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（20fk0108137h）と科研費（20KK0152）で実施しました（論文リスト 15）。

### ・ 診断方法の開発と疫学調査

#### 「フィリピンのヒト血清を用いたトキソプラズマのデンスグラニユル抗原（TgGRA6, TgGRA7, TgGRA14）の抗原性解析」

トキソプラズマ症の制御には、信頼性の高い診断系の開発が必須です。トキソプラズマは細胞内寄生原虫であるため、簡易検査としては抗体検査が有効です。以前の我々の研究では、フィリピンにおけるトキソプラズマ感染の実態を明らかにしました（Ybañez et al., PLoS One. 2019）。今回、フィリピンのヒト血清を用いたトキソプラズマのデンスグラニユル抗原（TgGRA6, TgGRA7, TgGRA14）の抗原性解析を行いました。TgGRA7 に加えて、TgGRA6 にも診断用抗原としての有効性が確認できました。今後は、これらの診断用抗原を利用した簡便な検査系の開発が期待できます。本研究はセブ工科大学（フィリピン）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(21fk0108137h)と国際共同研究 B（文部科学省：20KK0152)の研究費で実施しました（論文リスト 5）。

#### 「ウシのネオスポラ感染に対する血清診断法の開発：ネオスポラ抗原を搭載したイムノクロマトテストの有効性の検証」

ネオスポラ感染はウシの流産を引き起こすことから、畜産業に経済的な損失を与えます。ネオスポラ感染を制御するためには、迅速簡便な検査系を開発することが重要です。今回、ネオスポラの組換え抗原（NcSAG1, NcGRA6, NcGRA7、可溶性ライセート）を搭載したイムノクロマトを作製し、マウスとウシの血清を用いて有効性を評価しました。その結果、NcSAG1 を搭載したイムノクロマトが最も優れた特異性と感度を示しました。今後は、この結果をもとにした診断系の実用化が望まれます。本研究は South Valley 大学（エジプト）との共同研究の成果であり、科研費（18H02335, 20K21359, 21H02353）、JST バリュープログラム（VP29117937665）、伊藤記念財団、旗影会、畜産ニューテック協会の研究助成で実施しました（論文リスト 10）。

#### 「北海道の流産胎仔由来ネオスポラの集団遺伝解析」

ネオスポラ感染による牛の流産は日本でも発生していますが、原虫の集団遺伝構造は不明です。

今回、北海道の流産胎仔由来ネオスポラを対象にマイクロサテライト解析を行い、遺伝構造を決定しました。これまでに報告されている世界のネオスポラ遺伝子型とは異なる集団となる日本特有の集団が見つかりました。今回の結果は、日本国内でネオスポラが垂直感染、水平感染により独自に維持されていることを示しています。本研究はマンスーラ大学（エジプト）との共同研究の成果であり、科研費（18H02335, 20K21359）で実施しました（論文リスト16）。

#### 4. 学会等の活動状況

##### ① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本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・評議員
- ・ 日本寄生虫学会理事・評議員
- ・ 日本寄生虫学会北日本支部役員・理事・庶務委員

##### 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

- ・ 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 Journal of Veterinary Medical Science 編集委員
- ・ 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. 2021 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. Ahmed M Abdou, Abdel-latif S Seddek, Noha Abdelmageed, Mohamed O Badry, Yoshifumi Nishikawa\*. Wild Egyptian medicinal plants show *in vitro* and *in vivo* cytotoxicity and antimalarial activities. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. In press.
2. Nanang Rudianto Ariefta, Baldorj Pagmadulam, Coh-ichi Nihei, Yoshifumi Nishikawa\*. Sparsomycin exhibits potent antiplasmodial activity *in vitro* and *in vivo*. **Pharmaceutics**. 2022; 14(3): 544. PMID: 35335918.
3. Ragab M Fereig, Yoshifumi Nishikawa\*. Genetic disruption of *Toxoplasma gondii* peroxiredoxin (*TgPrx*) 1 and 3 reveals the essential role of *TgPrx3* in protecting mice from fatal consequences of toxoplasmosis. **International Journal of Molecular Sciences**. 2022; 23(6): 3076. PMID: 35328497.
4. Ahmed M Abdou, Rina Ikeda, Kenichi Watanabe, Hidefumi Furuoka, Yoshifumi Nishikawa\*. Role of dense granule antigen 7 in vertical transmission of *Neospora*

- caninum* in C57BL/6 mice infected during early pregnancy. **Parasitology International**. 2022; 89: 102576. PMID: 35301119.
5. Rochelle Haidee Ybañez, Yoshifumi Nishikawa\*. Comparative performance of recombinant GRA6, GRA7, and GRA14 for the serodetection of *T. gondii* infection and analysis of IgG subclasses in human sera from the Philippines. **Pathogens**. 2022; 11(2): 277. PMID: 35215219.
  6. Tanjila Hasan, Ryo Kawanishi, Hidetaka Akita, Yoshifumi Nishikawa\*. *Toxoplasma gondii* GRA15 DNA vaccine with a liposomal nanocarrier composed of an SS-cleavable and pH-activated lipid-like material induces protective immunity against toxoplasmosis in mice. **Vaccines (Basel)**. 2021; 10(1): 21. PMID: 35062682.
  7. Ruenruetai Udonsom, Yoshifumi Nishikawa, Ragab M Fereig, Thitirat Topisit, Natchakorn Kulkaweewut, Supitcha Chanamrung, Charoonluk Jirapattharasate. Exposure to *Toxoplasma gondii* in Asian elephants (*Elephas maximus indicus*) in Thailand. **Pathogens**. 2021; 11(1): 2. PMID: 35055950.
  8. Kousuke Umeda, Youta Goto, Kenichi Watanabe, Nanako Ushio, Ragab M Fereig, Fumiaki Ihara, Sachi Tanaka, Yutaka Suzuki, Yoshifumi Nishikawa\*. Transcriptomic analysis of the effects of chemokine receptor CXCR3 deficiency on immune responses in the mouse brain during *Toxoplasma gondii* infection. **Microorganisms**. 2021; 9(11): 2340. PMID: 34835465.
  9. Arpron Leesombun, Coh-ichi Nihei, Daisuke Kondoh, Yoshifumi Nishikawa\*. Polyether ionophore kijimicin inhibits growth of *Toxoplasma gondii* and controls acute toxoplasmosis in mice. **Parasitology Research**. 2022; 121(1): 413–422. PMID: 34750652.
  10. Ragab M Fereig, Hanan H Abdelbaky, Yoshifumi Nishikawa\*. Comparative evaluation of four potent *Neospora caninum* diagnostic antigens using immunochromatographic assay for detection of specific antibody in cattle. **Microorganisms**. 2021; 9(10): 2133. PMID: 34683454.
  11. Rina Ikeda, Nanako Ushio, Ahmed M Abdou, Hidefumi Furuoka, Yoshifumi Nishikawa\*. Toll-like receptor 2 is involved in abnormal pregnancy in mice infected with *Toxoplasma gondii* during late pregnancy. **Frontiers in Microbiology**. 2021; 12: 741104. PMID: 34675905.
  12. Ruenruetai Udonsom, Ruangrat Buddhironngawatr, Yoshifumi Nishikawa, Ragab M Fereig, Charoonluk Jirapattharasate. *Toxoplasma gondii* prevalence and risk factors in owned domestic cats from Nakhon Pathom Province, Thailand. **Veterinary Integrative Sciences**. 2021; 19(3): 557–566.
  13. Rajib Acharjee, Keith K Talaam, Endah D Hartuti, Yuichi Matsuo, Takaya Sakura, Bundutidi M Gloria, Shinaya Hidano, Yasutoshi Kido, Mihoko Mori, Kazuro Shiomi, Masakazu Sekijima, Tomoyoshi Nozaki, Kousuke Umeda, Yoshifumi Nishikawa,

- Shinjiro Hamano, Kiyoshi Kita, Daniel K Inaoka. Biochemical studies of mitochondrial malate: quinone oxidoreductase from *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Molecular Sciences**. 2021; 22(15): 7830. PMID: 34360597.
14. Orkhon Banzragchgarav, Nanang R Ariefta, Toshihiro Murata, Punsantsogvo Myagmarsuren, Badgar Battsetseg, Banzragch Battur, Javzan Batkhuu, Yoshifumi Nishikawa\*. Evaluation of Mongolian compound library for potential antimalarial and anti-*Toxoplasma* agents. **Parasitology International**. 2021; 85: 102424. PMID: 34302982.
  15. Orkhon Banzragchgarav, Javzan Batkhuu, Punsantsogvo Myagmarsuren, Badgar Battsetseg, Banzragch Battur, Yoshifumi Nishikawa\*. *In vitro* potently active anti-*Plasmodium* and anti-*Toxoplasma* Mongolian plant extracts. **Acta Parasitologica**. 2021; 66(4): 1442–1447. PMID: 34023977.
  16. El-Sayed El-Alfy, Yuma Ohari, Naomi Shimoda, Yoshifumi Nishikawa\*. Genetic characterization of *Neospora caninum* from aborted bovine fetuses in Hokkaido, Japan. **Infection, Genetics and Evolution**. 2021; 92: 104838. PMID: 33819682.
  17. Nanang Rudianto Ariefta, Takuya Koseki, Yoshifumi Nishikawa, Yoshihito Shiono. Spirocollequins A and B, new alkaloids featuring a spirocyclic isoindolinone core, from *Colletotrichum boninense* AM-12-2. **Tetrahedron Letters**. 2021; 64: 152736.

#### 総説（\*責任著者）

1. 潮奈々子, 西川義文\*. トキソプラズマ感染とげっ歯類の行動変容およびヒトの精神・神経疾患. **Infectious Agents Surveillance Report (IASR)**. 2022; 43: 62-63.
2. Fumiaki Ihara, Yoshifumi Nishikawa\*. *Toxoplasma gondii* manipulates host cell signaling pathways via its secreted effector molecules. **Parasitology International**. 2021; 83: 102368. PMID: 33905814.

#### 著書

1. Ragab M Fereig, Yoshifumi Nishikawa\*. Macrophage stimulation as a useful approach for immunoscreening of potential vaccine candidates against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections. **Methods in Molecular Biology**. 2022; 2411: 129–144. PMID: 34816403.

#### 7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. 「病原性原虫の制圧について」の紹介。第 26 回 One Health Relay Report (One Health フロンティア卓越大学院プログラム、北海道大学)、HP 掲載、<https://onehealth.vetmed.hokudai.ac.jp/activity/one-health-relay-report/26/> 2021 年 11 月 26 日
2. 「ネオスポラ制圧に向けた最近の動向について」講義を実施した。令和 3 年度家畜保健衛生所病性鑑定技術検討会(寄生虫部門)、Web 開催、2022 年 2 月 8 日

## 8. 招待講演等

1. Prevalence of zoonotic protozoal diseases in Mongolia and drug discovery from Mongolian natural resources, 特別講演、“VETERINARY SCIENCE – SUSTAINABLE COOPERATION” INTERNATIONAL ONLINE CONFERENCE – 2021, 60<sup>th</sup> anniversary of the institute of veterinary medicine, institute of veterinary medicine (Mongolia)、WEB 公開、2021 年 11 月 18 日

## 9. 獲得研究費

1. 令和 3 年度 基盤研究 B (一般) (文部科学省)、原虫伝搬因子を標的とした家畜病原性原虫ネオスポラの垂直感染防御法の開発 (21H02353)、代表、令和 3 年度～令和 6 年度
2. 令和 3 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 3 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
4. 令和 3 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
5. 令和 3 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 4 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 3 年度
6. 令和 3 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 (21fk0108137h0002)、分担、令和 2 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

1. 医学書院「週刊医学界新聞」第 3462 号 (2019 年 10 月 9 日) 難敵トキソプラズマ症に挑む、  
[https://www.igaku-shoin.co.jp/paper/archive/y2022/3462\\_03](https://www.igaku-shoin.co.jp/paper/archive/y2022/3462_03)

## 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、トキソプラズマ分泌性タンパク質群の宿主ミトコンドリアとの相互作用解析、2021年4月1日～2022年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究
3. 杉 達紀：北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所、ポピュレーショントラックによるマウスでの潜伏感染に必要なトキソプラズマ原虫遺伝子の機能評価、2021年4月1日～2022年3月31日、2021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や血糖値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 障害を惹起して、その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。次いで、肝からのビタミン 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。

また、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。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。サプリメントとしての植物油の投与は、原虫感染の予防や治療に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、妊孕能との関係についても検討しており、これまでにマウスマラリア感染に起因する造精能と授精能の低下を認めています。

## 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、イヌの発情間隔は非常に長く、1年に2回、あるいは2年に3回程程度しか発情を示さないことから、生殖工学技術を適用する上で、卵子提供雌や受容雌の確保が困難であり、これがイヌの生殖工学技術開発進展の障害のひとつとなっています。この問題を克服するためには、効率的な発情誘起法、過剰排卵誘起法の開発が求められていますが、最近、抗インヒビン抗体と性腺刺激ホルモンの併用投与によって、効率的、効果的に発情を誘起する方法の開発に成功しました。

さらに、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います。コロナ禍で研究が中断していますが、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. 2021 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。昨年は、マイ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  $\alpha$ -tocopheryloxy acid が、マウスマラリア原虫 *P. yoelii* 17XL 感染マウス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ました。本年度は、*P. yoelii* 17XL に加え、*P. berghei* についても検討を加えた結果、同様の成績を得ました。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ます。
- ・ 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す。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ましたが、昨年度は、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の凍

結保存液への添加が、凍結融解後の精子の運動性を有意に向上させ、人工授精後の高い受胎能を有することを見出しました。本年度は、ケルセチンの添加によって、イヌ精子凍結時の平衡時間を1~2時間短縮可能であることを見出し、精子の凍結保存技術の一層の効率化、簡便化に貢献しました。

- ・ イヌでは LH サージ (LH 0) の一定時間後に排卵を認めますが、報告によって 24~72 時間と幅が大きく、一匹のイヌにおける排卵の開始から完了までの時間も正確には理解されていません。人工授精や受精卵移植の適用には、排卵日の正確な把握が不可欠であることから、ラブラドル・レトリバーの自然発情 24 サイクルに対して、連日、血中プロゲステロン濃度の測定と 18MHz のリニアプローブを用いた超音波検査による卵巣・卵胞の観察を行い、排卵日の検出を試みた結果、15/24 サイクルにおいて、観察されたすべての卵胞の排卵が検出されました。その検出率は全体の 95%でありました。92%のサイクルでは LH 1~2 で排卵が始まり、82%の卵胞が LH 2~3 で排卵しました。また、排卵が 2 日および 3 日にわたって起こったサイクルが、それぞれ半数ずつで、1 日以内で排卵が完了したサイクルは認めませんでした。71%のサイクルでは LH2 で最大数が排卵しました。また、卵胞径は LH サージの 2 日前に 5 mm を超え、排卵時には 6.1 mm に成長していました。排卵開始日のプロゲステロン濃度は  $5.6 \pm 2.3$  ng/ml でしたが、排卵が起こる基準とされてきた 5 ng/ml 以下でも排卵が始まっている場合が多くありました。以上、18MH リニアプローブを用いて、排卵プロセスを経時的に観察することによって、高い排卵検出率が達成されることを示しました。
- ・ イヌは 1 年に 1~2 回しか発情期を迎えないことから、効率的な繁殖のために有効な発情誘起法の確立が求められるところですが、効果的・簡便かつ安全なゴールドスタンダードと言える方法は未だ存在しません。そこで、ウマ絨毛性性腺刺激ホルモン (eCG) と抗インヒビン血清 (IAS) の併用による無発情期の雌犬の発情及び過排卵の誘起を試みました。無発情期の雌犬を以下の 3 群に分け、それぞれ、I : IAS (0.1 ml/kg)、II : eCG (50 IU/Kg)、および III : IAS (0.1 ml/kg) と eCG (50 IU/Kg 体重) の混合溶液を筋肉内注射し (Day0)、II および III では Day 7 に 500 IU のヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) を投与しました。次いで、Day 0 ~14 まで発情徴候の観察と血中プロゲステロン (P4) 濃度の測定、超音波検査装置による卵巣・卵胞の観察を行った結果、I 群では発情徴候および卵胞の発育が認められず、II 群では発情徴候と卵胞の発育が観察されました。II 群の平均卵胞数は 8.3 個でしたが、平均排卵数は 4.5 個と少ないものでした。また、Day 7~8 に LH サージが起こりましたが、その後の P4 濃度の上昇は自然発情と比べて小さい成績でした。III 群では発情徴候と卵胞の発育が観察され、平均卵胞数は 8.8 個、平均排卵数は 9.6 個と発育した卵胞のすべてが排卵に致る成績でした。また、Day 7~9 に LH サージが起こり、その後の P4 濃度の上昇は eCG 単独投与群と比べて顕著に大きく、自然発情の場合と同等の成績を得ました。以上、IAS と eCG の混合投与によって発情が誘起され、過排卵に至る可能性、また、eCG 単独投与で見られた P4 濃度の低値及び排卵率の低下を改善できる可能性が示唆されました。

#### 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
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本実験動物学会
- ・ 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

- ・ 第62回日本卵子学会学術集会（2021年5月29日～30日、学術集会長、参加者1,300名）

#### 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
- ・ 日本卵子学会胚培養士認定委員会委員
- ・ 日本卵子学会学会将来検討委員会委員
- ・ マラヤ大学（マレーシア）学位論文審査外部審査委員
- ・ 日本実験動物学会動物実験に関する外部検証専門員

#### 6. 2021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. Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Thillaiampalam, Sivakumar, Naoaki Yokoyama, Kozo Fujisaki, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan, Rika Umemiya-Shirafuji. Molecular detection of *Borrelia burgdorferi* (*sensu lato*) and *Rickettsia* spp. in hard ticks distributed in Tokachi District, eastern Hokkaido, Japan. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**. 2021; 1: 10059. PMID: 35284860.
2. Hiroyuki Watanabe, Haruka Ito, Ayumi Shintome, Hiroshi Suzuki\*. Effects of oxygen tension and humidity on the preimplantation development of mouse embryos produced by *in vitro* fertilization: Analysis using a non-humidifying incubator with time-lapse cinematography. **Experimental Animals**. In press. PMID: 35249913.
3. Shinji Harakawa, Takaki Nedachi, Toshikazu Shinba, Hiroshi Suzuki. Stress-reducing

- effect of a 50 Hz electric field in mice after repeated immobilizations, electric field shields, and polarization of the electrodes. **Biology (Basel)**. 2022; 11(2): 323. PMID: 35205189.
4. Paul Franck Adjou Moumouni, Germaine Lim-Bamba Minoungou, Christian Enonkpon Dovonou, Eloiza May Galon, Artemis Efstratiou, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan. A survey of tick infestation and tick-borne piroplasm infection of cattle in Oudalan and Séno Provinces, Northern Burkina Faso. **Pathogens**. 2021; 11(1): 31. PMID: 35055979.
  5. Hiroyuki Watanabe, Hiroshi Suzuki\*. Morphokinetic analysis of development to the morula of mouse embryos fertilized *in vitro* using an incubator with time-lapse cinematography. **Journal of Mammalian Ova Research**. 2021; 38(2): 61–68.
  6. Mei Tsuchida, Nako Komura, Tatsuya Yoshihara, Yuta Kawasaki, Daichi Sakurai, Hiroshi Suzuki\*. Ultrasonographic observation in combination with progesterone monitoring for detection of ovulation in Labrador Retrievers. **Reproduction in Domestic Animals**. 2022; 57(2): 149–156. PMID: 34724259.
  7. Mei Tsuchida, Daichi Sakurai, Nako Komura, Naomi Nakagata, Hiroshi Suzuki\*. Induction of oestrus by administering Inhibin antiserum along with equine chorionic gonadotropin in anoestrous bitches. **Reproduction in Domestic Animals**. 2021; 56(11): 1398–1405. PMID: 34388283.
  8. Kasumi Kawamura, Aiko Kume, Rika Umemiya-Shirafuji, Shunji Kasai, Hiroshi Suzuki\*. Effect of  $\alpha$ -tocopheryloxy acetic acid, a vitamin E derivative mitocan, on the experimental infection of mice with *Plasmodium yoelii*. **Malaria Journal**. 2021; 20(1): 280. PMID: 34167535.
  9. 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(1): e0009074. PMID: 33513141.

## 総説

1. Hiroshi Suzuki\*, Hiroyuki Watanabe, Yasuyuki Abe. Assisted reproductive techniques for canines: preservation of genetic material in domestic dogs. **The Journal of Reproduction and Development**. 2022; 68(1): 1–11. PMID: 34840199.

## 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. 日本繁殖生物学会第 144 回大会イヌの生殖工学技術開発に関する研究、2021 年 9 月 23 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**

1. 受賞名：2021 年度日本繁殖生物学会技術賞  
受賞テーマ：イヌの生殖工学技術開発に関する研究

## **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. マダニ媒介感染症制御による畜産農家支援プログラム（ウガンダ共和国）

◆-----准教授 白藤 梨可  
(Rika Umemiya-Shirafuji)

### 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. 2021年度研究の総括

- ・ フタトゲチマダニは原虫、リケッチア、ウイルスといった多種多様な病原体を動物・ヒトに媒介する国内の重要なマダニ種です。獣医学上および医学上の重要性から、フタトゲチマダニはマダニ/ベクター生物学的研究のモデルとして実験室内で累代飼育され、様々な実験に使用されてきました。私たちの研究グループでは、吸血および胚発生中の生理学的プロセスに関連する重要なマダニ分子を見出すことを目的として、フタトゲチマダニの臓器別完全長 cDNA ライブラリーを作製しました。今回、フタトゲチマダニ雌（単為生殖系）の脂肪体、ヘモリンフ（体液）、中腸、卵巣、唾液腺、および同マダニの発育胚サンプルより得られた cDNA 配列情報をもとに構築した Expressed sequence tag (EST) データベースを再構築しました。合計 39,113 の EST 配列（胚 7,745、脂肪体 7,385、ヘモリンフ 8,303、中腸 7,385、および卵巣 8,295 配列）を日本 DNA データバンクに新規に登録しました。これらのデータと登録済みの唾液腺 EST を集約し、データ論文ならびにホームページ上で公開しました（論文リスト4）。

- ・ 2017年、北海道十勝地方の7か所においてマダニを採集し、マダニ種の同定とそれらの保有

病原体を調べました。採集したマダニは、ヤマトマダニ、シュルツエマダニ、ヤマトチマダニおよびオトゲチマダニの4種であり、1155匹のマダニをDNA抽出に使用しました。527匹（成ダニ484匹、若ダニ41匹、幼ダニ2匹）より個別DNA、幼ダニ67サンプル（1~10匹/サンプル）よりプールDNAを得ました。これらのDNAを鋳型とし、PCRによる*Borrelia burgdorferi* (*sensu lato*) および*Rickettsia* spp. 遺伝子検出を試みました。ボレリア *flaB* 遺伝子配列解析の結果、シュルツエマダニにおいて、ヒトに対し病原性を示す *B. burgdorferi* (*s.l.*) 種 (*B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. afzelii*) の存在が示唆され、非病原性の *B. japonica* はヤマトマダニにおいてのみ検出されました。また、シュルツエマダニでは、*B. garinii* および/またはその近縁種である *B. bavariensis* が成ダニと若ダニの両方で検出された（21.9%）のに対し、*B. afzelii* は成ダニでのみ検出されました（1.8%）。ヤマトマダニ成ダニにおける *B. japonica* の保有率は21.8%でした。次に、リケッチア *gltA*、16S rRNA、*ompB* および *sca4* 遺伝子をPCRにより検出しました。ヒトに対し病原性を示す *R. helvetica* の保有率は、シュルツエマダニ成・若ダニで26.0%、幼ダニ（プール）で55.6%、オトゲチマダニ幼ダニ（プール）で1.7%でした。“*Candidatus R. tarasevichiae*”については、シュルツエマダニ成・若ダニで15.4%、幼ダニ（プール）で33.3%の保有率でした。また、オトゲチマダニ成・若ダニにおける“*Candidatus R. principis*”の保有率は11.1%でしたが、オトゲチマダニ幼虫プールサンプルでは3.4%で検出されました。これらのことから、十勝地方においては、ヒトに対しボレリア、リケッチアの媒介リスクを有する主要マダニ種はシュルツエマダニであることが確認されました（論文リスト2）。

#### 4. 学会等の活動状況

##### ① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本獣医寄生虫学会評議員・教育委員
- ・ 日本ダニ学会編集幹事・文献目録委員
- ・ 日本寄生虫学会
- ・ 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

該当なし

#### 6. 2021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. Paul Franck Adjou Moumouni, Germaine Lim-Bamba Minoungou, Christian Enonkpon Dovonou, Eloiza May Galon, Artemis Efstratiou, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto

- Byamukama, Patrick Vudriko, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan. A survey of tick infestation and tick-borne piroplasm infection of cattle in Oudalan and Séno Provinces, northern Burkina Faso. **Pathogens**. 2021; 11: 31. PMID: 35055979.
2. Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama, Kozo Fujisaki, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan, **Rika Umemiya-Shirafuji**\*. Molecular detection of *Borrelia burgdorferi* (*sensu lato*) and *Rickettsia* spp. in hard ticks distributed in Tokachi District, eastern Hokkaido, Japan. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**. 2021; 1: 100059. PMID: 35284860
  3. Eloiza May Galon, Adrian Miki Macalanda, Mary Margaret Garcia, Chrysler James Ibasco, Anatolio Garvida, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Yae Hasegawa, Mingming Liu, Rochelle Haidee Ybañez, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Adrian Ybañez, Florencia Claveria, Xuenan Xuan. Molecular identification of selected tick-borne protozoan and bacterial pathogens in thoroughbred racehorses in Cavite, Philippines. **Pathogens**. 2021; 10: 1318. PMID: 34684266.
  4. **Rika Umemiya-Shirafuji**\*, Jinlin Zhou, Min Liao, Badgar Battsetseg, Damdinsuren Boldbaatar, Takeshi Hatta, Thasaneeya Kuboki, Takeshi Sakaguchi, Huey Shy Chee, Takeharu Miyoshi, Xiaohong Huang, Naotoshi Tsuji, Xuenan Xuan, Kozo Fujisaki. Data from expressed sequence tags from the organs and embryos of parthenogenetic *Haemaphysalis longicornis*. **BMC Research Notes**. 2021; 14: 326. PMID: 34433501.
  5. Kasumi Kawamura, Aiko Kume, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Shunji Kasai, Hiroshi Suzuki. Effect of  $\alpha$ -tocopheryloxy acetic acid, a vitamin E derivative mitocan, on the experimental infection of mice with *Plasmodium yoelii*. **Malaria Journal**. 2021; 20: 280. PMID: 34167535.
  6. Ehab Mossaad, Alex Gaithuma, Yassir O Mohamed, Keisuke Suganuma, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Yuma Ohari, Bashir Salim, Mingming Liu, Xuenan Xuan. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens in cattle from Khartoum State and East Darfur State, Sudan. **Pathogens**. 2021; 10: 580. PMID: 34068782.

## 総説

該当なし

## 著書

1. **Rika Umemiya-Shirafuji**. Distribution, seasonal occurrence, and biological characteristics of *Haemaphysalis longicornis*, a vector of bovine piroplasmosis in Japan. CABI Climate Change Series. 2021 Nov: 183-187. In Climate, Ticks and Disease; Editor: Pat Nuttall; CABI, Switzerland.

## 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(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
5. 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、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

該当なし

## 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、介卵伝播性時における共生菌-マダニ間のクロストーク解析、2021年4月1日～2022年3月31日、2021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、分泌型フェリチン遺伝子ノックダウンによるフタトゲチマダニの胚発生に及ぼす影響、2021年4月1日～2022年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究
3. 鈴木 丈詞：東京農工大学大学院農学研究院、カブリダニの卵形成の分子機構解明と人工飼料開発への応用、2021年4月1日～2022年3月31日、2021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

- ・ 牛およ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
- ・ ピロプラズマの媒介マダニに関する基礎および疫学研究
- ・ 牛およ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
- ・ 人バベシア病の治療法確立に向けた基礎研究
- ・ プラズマ技術を用いた原虫病対策に資する新学術的研究

### 3. 2021年度研究の総括

- ・ 原虫病の治療法を開発するためのプラズマ技術の応用： *Trypanosoma brucei* (Tb) は、ヒトの血液中に寄生して、睡眠病と呼ばれる致死疾患を引き起こします。これまでに化学物質やマクロファージのファゴソームを用いた殺傷メカニズムの基礎研究から、この原虫は酸化ストレスに対して非常に高い感受性を示すことが示唆されてきました。そこで本研究では、大気圧下の低温プラズマ（LTP）装置を用いて、培養液中に酸化ストレスが増大した状態を再現し、Tbの試験管内増殖がどうなるかを調べました。その結果、LTP処理した培地ではTbの増殖が著しく阻害されることが分かりました。特に、原虫のミトコンドリアや小胞体が膨らみ、原虫の形態的な恒常性が失われる変化が見られました。このことから、LTP技術を用いて増大させた酸化ストレスがTbを死滅させることを明らかにしました。プラズマ技術は、病変に寄生する原虫を、酸化ストレスを増大させることで殺滅できる新たな治療法となることが期待されます。また、輸血血液内や環境下に隠れた原虫の消毒などにも活用できるかもしれません。さらに、酸化ストレスの殺滅機序を解明することで原虫に対する新たな治療薬の標的が発見できる可能性があります。本研究は、千葉大学、名古屋大学、および産業技術総合研究所と共同で実施しました。

- ・ 蛍光タンパク質を発現する組換え *Theileria equi* を用いたライブイメージング解析 : *Theileria equi* はマダニによって媒介される赤血球内寄生性原虫で、感染馬に発熱、貧血、黄疸などを主徴とする致死性の馬ピロプラズマ病を引き起こします。*T. equi* に感染した馬は終生キャリアーとなり、非感染馬への感染源となります。一方で馬体内に寄生した本原虫の増殖メカニズムは不明な点が多く、結果として *T. equi* を感染馬から完全に排除できる治療薬は未だ開発されていません。本研究では、緑色蛍光タンパク質 (GFP) を恒常的に発現する組換え *T. equi* を作出し、赤内期の増殖サイクルを対象としたライブイメージング解析を行いました。まず、遺伝子導入部位である *T. equi* の *elongation factor-1 alpha (ef-1a)* 遺伝子とその転写調節領域を特定しました。その後 *ef-1a* 遺伝子のプロモーターおよびターミネーター領域の間に GFP と blasticidin 耐性因子が融合した eGFP/BSD 遺伝子を挿入したプラスミドを構築し、その発現カセットを *T. equi* ゲノムの *ef-1a* 遺伝子座に導入しました。培養 9 日後に出現した blasticidin 耐性原虫を限界希釈することにより、組換え系統の単離を行いました。その組換え系統における *ef-1a* 遺伝子内への eGFP/BSD 遺伝子カセットの組み込みは、PCR およびサザンブロット解析によって確認しました。組換え系統と親株との間で試験管内増殖能に違いは認められませんでした。次に、共焦点レーザー顕微鏡を用いたライブイメージング解析を行いました。その結果、赤内期の全ての増殖ステージにおいて、GFP が常に発現していることが確認されました。また、赤内期の 4 分裂虫体が感染赤血球膜が消失した後に赤血球外へと脱出していき様子が撮影されました。さらに、脱出後のメロゾイトが能動的に運動しながら移動している様子も観察されました。本 GFP 発現 *T. equi* はその増殖を視覚的に捉えることができることから、*T. equi* の増殖メカニズムを明らかにする上で有用な研究ツールとなります。今後は、*T. equi* の生物学のさらなる理解を通して馬ピロプラズマ病に対する新規治療薬の開発を目指します。
- ・ クロファジミンとアトバコンの併用による人バベシア病の根治療法の確立 : *Babesia microti* 感染による免疫不全患者のヒトバベシア病は、現在使用されている薬剤では効果がなく、しばしば致命的となります。最近の研究から、感染免疫不全マウスにおいてクロファジミン (clofazimine) の投与が *B. microti* Munich 株の駆逐に効果的であることが明らかになりました。本研究では、同様に免疫不全マウスを用いて、人分離株である *B. microti* Peabody mjr 株に対するクロファジミン単独、もしくはクロファジミン、アトバコン (atovaquone)、およびアジスロマイシン (azithromycin) の 2 剤併用療法の有効性をそれぞれ検証しました。その結果、クロファジミン単独投与、クロファジミン+アジスロマイシン併用投与、アトバコン+アジスロマイシン併用投与では原虫を完全に排除できませんでしたが、クロファジミン+アトバコンによる 44 日間の連続併用投与は高い効果を示し、根治的な治癒効果を得ることができました。本研究により、人バベシア病に対する有益な根治療法の組み合わせを明らかにできました。
- ・ モンゴル国のラクダにおける牛バベシアの感染疫学調査 : 牛バベシアによって引き起こされる牛バベシア病は、畜産業に多大な経済的損失を与えています。牛バベシアは水牛などの牛以外の宿主からも頻りに検出されており、そこからマダニによって牛に伝播する可能性が危惧され

ています。そのため、牛だけでなく牛以外の宿主における牛バベシアの感染も監視する必要があります。本研究では、モンゴル国のラクダを対象に、モンゴルの牛から過去に検出された臨床学的に重要な3種の牛バベシア (*Babesia bovis*、*B. bigemina*、および *Babesia sp. Mymensingh*) の感染について疫学調査を行いました。我々は、モンゴル国内の6県のラクダ計305頭から採取した血液DNAサンプルについて、原虫特異的PCR法を用いてスクリーニング調査を行いました。その結果、モンゴル国のラクダは調査した3種すべての牛バベシアに感染していることが判明しました。*B. bovis*、*B. bigemina*、および *Babesia sp. Mymensingh* の全体陽性率はそれぞれ32.1%、21.6%、24.3%であり、調査対象動物の52.5%が少なくとも1種の牛バベシアに感染している実態が明らかとなりました。モンゴル国では通常牛とラクダが放牧地を共有しており、さらに牛に寄生するマダニ種はラクダにも寄生します。これらの背景から、牛とラクダの間でマダニを介した牛バベシアの伝播が起こっている可能性が示唆されました。したがって、モンゴル国における牛バベシア病の防除戦略には、ラクダにおける牛バベシア感染の対策を含める必要があります。本研究は、モンゴル(Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences) との国際共同研究として実施しました。

- ・ スリランカ国の口バにおける *Theileria equi* の感染疫学調査: 馬ピロプラズマ病 (EP) は、馬、口バ、シマウマ、ラバなどのウマ科動物が *Theileria equi* と *Babesia caballi* の感染によって引き起こされるマダニ媒介性疾患です。EP は世界的に流行しており馬産業に多大な経済的被害を及ぼしています。特に、感染した動物はキャリアーとなり媒介マダニの感染源となることから疾病管理上の大きな課題となっています。スリランカ国の家畜の間では様々なマダニ媒介病原体による感染症が知られていますが、*T. equi* と *B. caballi* による感染実態はスリランカでは未解明のままです。そこで本研究では、見かけ上健康な放し飼い口バを対象に、*T. equi* と *B. caballi* を検出する感染疫学調査を実施しました。スリランカの Mannar 地区 ( $n = 100$ ) と Kilinochchi 地区 ( $n = 11$ ) の口バ計 111 頭から血液サンプルを採取しました。まず血液サンプルから血液塗抹標本を作製し、顕微鏡検査を行いました。次に血液から DNA を採取し、種特異的 PCR 法を用いて *T. equi* および *B. caballi* 感染のスクリーニング診断を行いました。その結果、64 頭 (57.7%) および 95 頭 (85.6%) の口バが、それぞれ顕微鏡検査および PCR 検査により *T. equi* に陽性を示しました。一方で *B. caballi* はすべての検体で陰性でした。また *T. equi* の 18S rRNA 配列の系統解析から、C と D の 2 つの異なる遺伝子型が検出されました。これらの成果は、スリランカ国で減少している口バの *T. equi* による EP のモニタリングの重要性を明らかにするものとなりました。本研究は、スリランカ (Veterinary Research Institute) との国際共同研究として実施しました。

#### 4. 学会等の活動状況

##### ① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議員、疾患名用語集委員
- ・ 日本獣医寄生虫学会理事・評議員、教育委員会委員長
- ・ 日本寄生虫学会評議員

- ・ 日本熱帯医学会評議員
- ・ 日本衛生動物学会

## ② 主催した学会、研究会等

- ・ OIE Academic Exchange Seminar (IVM-NRCPD) 「Molecular epidemiology of bovine *Babesia* species in domestic ruminants and *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Mongolia」、原虫病研究センター/モンゴル獣医学研究所（オンライン）、2022年3月24日

## 5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 国際獣疫事務局（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
- ・ OIE 専門家委員会「馬ピロプラズマ病」委員
- ・ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 共同利用・共同研究拠点・課題等審査委員会委員
- ・ 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
- ・ 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
- ・ 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. 2021 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. 久保木基高、中江徳洋、山根俊治、平山一人、酒井由紀夫、戸次信彰、横山直明（2021）：福岡県内の小型ピロプラズマ感染調査、家畜診療、693号、p159.
2. Believe Ahedor, Hemal Kothalawala, Ratnam Kanagaratnam, Singarayar Caniciyas Vimalakumar, Davaajav Otgonsuren, Bumduuren Tuvshintulga, Enkhbaatar Batmag-nai, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama\*. First detection of *Theileria equi* in free-roaming donkeys (*Equus africanus asinus*) in Sri Lanka. **Infection, Genetics and Evolution**. 2022 Feb 9; 99: 105244. PMID: 35149223.
3. Shengwei Ji, Mingming Liu, Eloiza May Galon, Mohamed Abdo Rizk, Bumduuren Tuvshintulga, Jixu Li, Iqra Zafar, Yae Hasegawa, Aiko Iguchi, Naoaki Yokoyama, Xuenan Xuan. Inhibitory effect of naphthoquine phosphate on *Babesia gibsoni* *in vitro* and *Babesia rodhaini* *in vivo*. **Parasites & Vectors**. 2022 Jan 7; 15(1): 10. PMID: 34991686.
4. Davaajav Otgonsuren, Thillaiampalam Sivakumar, Tovuu Amgalanbaatar, Batsaikhan

- Enkhtaivan, Sandagdorj Narantsatsral, Batdorj Davaasuren, Myagmar Zoljargal, Dalandai Munkhgerel, Batbold Davkharbayar, Enkhbaatar Batmagnai, Bumduuren Tuvshintulga, Believe Ahedor, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Banzragch Battur, Badgar Battsetseg, **Naoaki Yokoyama**\*. Molecular survey of bovine *Babesia* species in Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in Mongolia. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2022 Jan; 13(1): 101871. PMID: 34814064.
5. Bumduuren Tuvshintulga, Thillaiampalam Sivakumar, Arifin Budiman Nugraha, Believe Ahedor, Enkhbaatar Batmagnai, Davaajav Otgonsuren, MingMing Liu, Xuenan Xuan, Ikuo Igarashi, **Naoaki Yokoyama**\*. Combination of clofazimine and atovaquone as a potent therapeutic regimen for the radical cure of *Babesia microti* infection in immunocompromised hosts. **The Journal of Infectious Diseases**. 2022 Jan 18; 225(2): 238–242. PMID: 34664651.
  6. Kiyoshi Okado, Paul Franck Adjou Moumouni, Seung-Hun Lee, Thillaiampalam Sivakumar, **Naoaki Yokoyama**, Kozo Fujisakia, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan, Rika Umemiya-Shirafuji. Molecular detection of *Borrelia burgdorferi (sensu lato)* and *Rickettsia* spp. in hard ticks distributed in Tokachi District, eastern Hokkaido, Japan. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**. 2021 Oct; 1: 100059.
  7. Yongchang Li, Mohamed Abdo Rizk, Eloiza May Galon, Mingming Liu, Jixu Li, Aaron Edmond Ringo, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Maria Agnes Tumwebaze, Byamukama Benedicto, **Naoaki Yokoyama**, Ikuo Igarashi, Bayin Chahan, Xuenan Xuan. Discovering the potent inhibitors against *Babesia bovis in vitro* and *Babesia microti in vivo* by repurposing the natural product compounds. **Frontiers in Veterinary Science**. 2021 Nov 29; 8: 762107. PMID: 34912876.
  8. Batsukh Odonbayar, Bumduuren Tuvshintulga, **Naoaki Yokoyama**, Duger Badral, Buyanmandakh Buyankhishig, Javzan Batkhuu, Keisuke Sukanuma, Ikuo Igarashi, Kenroh Sasaki, Toshihiro Murata. Anti-piroplasma activity of 2-methylbutane galloyl glycosides from *Saxifraga spinulosa*. **Phytochemistry Letters**. 2021 June; 43: 135–139.
  9. Amarin Rittipornlertrak, Boondarika Nambooppha, Anucha Muenthaisong, Veerasak Punyapornwithaya, Saruda Tiwananthagorn, Yang-Tsung Chung, Bumduuren Tuvshintulga, Thillaiampalam Sivakumar, **Naoaki Yokoyama**, Nattawooti Sthitmatee. Structural and immunological characterization of an epitope within the PAN motif of ectodomain I in *Babesia bovis* apical membrane antigen 1 for vaccine development. **PeerJ**. 2021 Jul 16; 9: e11765. PMID: 34316404.
  10. ThankGod E Onyiche, Thillaiampalam Sivakumar, Bumduuren Tuvshintulga, Arifin Budiman Nugraha, Believe Ahedor, Lehlohonolo Mofokeng, Joshua Luka, Ali Mohammed, Albert W Mbaya, Abdullahi A Biu, **Naoaki Yokoyama**, Oriel Thekisoe. Serosurvey for equine piroplasms in horses and donkeys from North-Western Nigeria using

- IFAT and ELISA. **Journal of Immunoassay and Immunochemistry**. 2021 Jun 7; 1–14. PMID: 34097577.
11. Bumduuren Tuvshintulga, Arifin Budiman Nugraha, Tomoka Mizutani, Mingming Liu, Takahiro Ishizaki, Thillaiampalam Sivakumar, Xuenan Xuan, **Naoaki Yokoyama\***, Ikuo Igarashi. Development of a stable transgenic *Theileria equi* parasite expressing an enhanced green fluorescent protein/blasticidin S deaminase. **Scientific Reports**. 2021 Apr 27; 11(1): 9107. PMID: 33907262.
  12. 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 Jul; 91: 104806. PMID: 33722696.
  13. **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 Jan; 60(2): 020601.

## 総説

該当なし

## 著書

1. **横山直明** (分担執筆) (2022) : 馬ピロプラズマ病、馬トリパノソーマ病、p284-287、獣医内科学 (第3版) 産業動物編、猪熊壽ら監修、文永堂出版

## 7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. OIE 診断依頼の受託「馬ピロプラズマ病」(令和3年度) : イギリス、ニュージーランド、日本より計 11 件 (20 検体)
2. OIE 診断依頼の受託「牛小型ピロプラズマ病」(令和3年度) : 国内より計 3 件 (135 検体)
3. OIE 診断試料の提供「馬ピロプラズマ病血清診断用の IFAT スライド」(令和3年度) : イギリス、フランス、カナダ、アルゼンチンへ計 7 件 (2,760 枚)
4. OIE 診断試料の提供「馬ピロプラズマ病血清診断用のコントロール血清」(令和3年度) : トルコへ計 1 件 (4 検体)
5. OIE 診断試料の提供「馬ピロプラズマ病遺伝子診断用のコントロール DNA」(令和3年度) : ルーマニアへ計 1 件 (1 検体)
6. OIE 診断試料の提供「牛のバベシア病用の IFAT スライド」(令和3年度) : オーストリアへ計 2 件 (1,985 枚)
7. 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)：イギリス、オランダ、フランス、ポルトガル、スウェーデン、トルコ、ジンバブエ、UAE、カタール、キルギス、モンゴル、インド、パキスタン、オーストラリア、ニュージーランド、ニューカレドニア、USA、メキシコ、アルゼンチン、ブラジル、日本、OIE へ計 31 件
8. 「馬のピロプラズマ病」に関する OIE terrestrial code 案を専門家委員会にて取りまとめ、OIE に提出 (2021 年 7 月)
  9. 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」、および 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」の活動報告書を OIE に提出 (2022 年 1 月)

## 8. 招待講演等

1. 「Current status and control of oriental theileriosis in Japan」学際領域特別講義、岐阜大学 (オンライン)、2021 年 6 月 22 日
2. 「牛の放牧衛生」家畜衛生講習会 (牛疾病特殊講習会)、農林水産省 (オンライン)、2021 年 7 月 29 日
3. 「Bovine babesiosis~Role of OIE reference laboratory~」人獣共通感染症対策専門家特論、北海道大学 (オンライン)、2021 年 9 月 3 日
4. 「原虫病に対する治療法を開発するためのプラズマ技術の可能性について」、シンポジウム 3 「プラズマによる生体荷電制御科学の進展」、プラズマ・核融合学会 (オンライン)、2021 年 11 月 23 日

## 9. 獲得研究費

1. 平成 3 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 3 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. 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
5. 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
6. 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
7. 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

## 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
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, 2021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, 2021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。また、バベシア原虫での遺伝子操作技術の開発を行っています。ここで開発した外来遺伝子発現技術や遺伝子ノックアウト技術を活用して、同原虫の赤血球侵入機構やマダニ体内での発育機構をライブイメージングによって「目に見える」形で明らかにしていこうとしています。

住血吸虫症は、フィリピンをはじめとするアジアの途上国においても、農村や漁村の保健衛生および家畜衛生と密接に関連した人獣共通感染症です。アジア地域からの住血吸虫症の排除（elimination）に向けて、患者と保中宿主動物で、この寄生虫病を正確に診断する酵素抗体法（ELISA）やポイント・オブ・ケア・テスト（POCT）などの One-Health 適正技術を開発する研究および、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、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
- ・ アジア型住血吸虫症の適正診断技術の開発研究
- ・ アジアに分布する住血吸虫の集団遺伝学研究

### 3. 2021 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、遺伝子改変バベシア原虫でのゲノム機能解析（Functional genomics）において必須となる同調培養の技術を開発する目的で、同原虫の宿主赤血球から遊出（egress）における Cyclic GMP-dependent protein kinase (PKG)の役割を（バベシア・ボービス *Babesia bovis*）で解析しました。その結果、バベシア原虫の“egress”において PKG が重要な役割を担うこと、

また、この過程には、calcium-dependent protein kinase (CDPK)や cAMP-dependent kinase (PKA)といった他の分子が介在するカスケードも共役していることが推測されました。一連の研究成績を、バベシア原虫での同調培養技術の開発に向けた基礎知見として、専門誌に公表いたしました(論文リスト1)。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。また、5-ALA(5-アミノレブリン酸)のバベシア症治療効果を *B. bovis* を用いた *in vitro* 培養実験系および、(バベシア・ミクロティ *Babesia microti*) を用いた *in vivo* マウス感染実験系で評価いたしました。一連の研究成績を、新規バベシア症治療法の開発に向けた基礎知見として、専門誌に公表いたしました(論文リスト2)。

- ・ 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、カンボジア・ラオスの農村や漁村で流行するアジア型の住血吸虫症(メコン住血吸虫症)の患者を検出するELISAを整備する目的で、私達がこれまでに日本住血吸虫症の診断で有用であることを報告している、thioredoxine peroxidase 1(TPx-1)の組換え体抗原を応用して評価いたしました。その結果、日本住血吸虫TPx-1などの有用抗原をELISAに応用することで、メコン住血吸虫症診断法の開発も可能になることが解りました。ELISAやPOCTなどの高感度・高特異性の診断法を整備することで、患者や保虫宿主動物の正確な診断と精緻な疫学調査が可能になり、アジア地域からの住血吸虫症のeliminationに向けた取り組みが加速することが期待できます。

#### 4. 学会等の活動状況

##### ① 所属学会等、役職等

- ・ 日本熱帯医学会理事(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

- ・ 長崎大学熱帯医学研究所運営協議会委員
- ・ 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. 2021 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\*, Masahito Asada, Takahiro Ishizaki, Shin-ichiro Kawazu. Isolation of viable *Babesia bovis* merozoites to study parasite invasion. **Scientific Reports**. 2021; 11(1): 16959. PMID: 34417510.
2. Afrra Elata, Keisuke Suganuma, Ehab Mossaad, Iqra Zafar, Eloiza May Galon, Keiichiro Yoshimoto, Tohru Tanaka, Xuan Xuenan, Shin-ichiro Kawazu\*. Evaluation of 5-aminolevulinic acid plus ferrous ion for its potential to improve symptoms of bovine babesiosis. **Parasitologia**. 2021; 1(4): 218–224.

### 総説

1. Hassan Hakimi\*, Masahito Asada, Shin-ichiro Kawazu. Recent advances in molecular genetic tools for *Babesia*. **Veterinary Sciences**. 2021; 8(10): 222. PMID: 34679052.

### 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. The 2nd International Forum on Collaborative Researches in Parasitic Diseases : Web シンポジウム、Manila, Philippines、2021 年 5 月 25 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)、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

4. 令和3年度 独立行政法人日本学術振興会チェコとの共同研（CAS）（日本学術振興会）、DiCre/loxP システムを応用した遺伝子改変バベシア原虫の創出 (JPJSBP120212501)、代表、令和3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：河津 信一郎  
受賞名：第10回相川正道賞（日本熱帯医学会）  
受賞テーマ：マラリア原虫の酸化ストレス応答に関する研究  
受賞年：2021年11月4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、2021年4月1日～2022年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究(2021-joint-18 継続)
5. 荒木 球沙：国立感染症研究所寄生動物部、可視化マラリア原虫を用いたオルガネラの三次元構造解析、2021年4月1日～2022年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究(2021-joint-3)

## 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宿主哺乳類と媒介吸血昆虫の疫学調査を通じてその感染状況の時空間的動態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、トリパノソーマ及びその他の病原体を媒介する吸血昆虫の制御法の開発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
- ・ 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
- ・ 吸血昆虫及び媒介病原体の発生動態の時空間的解析

## 3. 2021 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（こうえき）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、感染ウマの交尾によって感染が拡大します。媾疫は OIE の定める国際重要家畜疾患であるにもかかわらず、*T. 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。本研究では *T. equiperdum* 長期感染マウスモデルを構築し、組織病変について検討しました。本研究で確立した感染モデルを用いて、媾疫治療法の開発の進展などが期待されます（論文リスト 8）（帯広畜産大学基礎獣医学研究部門との共同研究）。
- ・ 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、薬用植物由来化合物群及び合成化合物群の抗トリパノソーマ活性を検証しています。今年度はザンビア国などアフリカ南部に自生する *Cassia abbreviata* 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、ピ

ロガロール構造を有する一連の化合物群に抗トリパノソーマ活性を見出しました。(論文リスト2)(東北医科薬科大学、ザンビア大学との共同研究)。また、*Alpinia galanga* から抽出された各種化合物に対してトリパノソーマを含む複数種の抗原虫活性を検討した結果、ヒドロキノンなどに抗リーシュマニアおよび抗トリパノソーマ活性を見出しました(論文リスト12)(広島大学との共同研究)さらにオキサゾールおよびニトロフラントイン関連化合物ライブラリーを用いた抗トリパノソーマ活性化化合物の構造活性相関解析を行い、オキサゾール関連化合物の抗トリパノソーマ活性発現及び細胞毒性の低減に重要な構造(論文リスト9)(東北医科薬科大学との共同研究)及びニトロフラントイン関連化合物の抗トリパノソーマ活性発現及び細胞毒性の低減に重要な構造(論文リスト7)(南ア North-West 大学との共同研究)を明らかにしました。これらの *in vitro* でのスクリーニングで見出された抗トリパノソーマ活性化化合物の治療効果を、*in vivo* で検証することで、新規治療薬の開発が期待されます。

- ・ 動物トリパノソーマ症はアフリカのみならず、アジア・南米諸国での畜産業に負の影響を与える感染症です。南米諸国ではブラジル、ボリビア、アルゼンチンなど、多くの国で家畜トリパノソーマ症の疫学調査が実施され、流行が確認されています。しかしそれらの家畜トリパノソーマ症流行国に囲まれたパラグアイにおいては、これまでに家畜トリパノソーマ症の疫学調査は行われておらず、その流行状況は不明でした。そこでパラグアイで飼養されているウマ 408 頭を対象に、PCR 法による家畜トリパノソーマ (*Trypanozoon* 及び *T. vivax*) の感染実態を調査しました。その結果、調査したパラグアイ全県で家畜トリパノソーマの感染ウマが認められ、他種家畜、保虫宿主である野生動物および媒介節足動物を含めた疫学調査の必要性が示唆されました(論文リスト1)(帯広畜産大学生命・食料科学研究部門およびパラグアイ CEDEPEP 社との共同研究)。
- ・ *Trypanosoma theileri* 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の生産性に *T. theileri* 感染が与える影響を、年間を通じた血液成分値及び乳成分値と *T. theileri* 感染の有無をロジスティック混合回帰分析によって解析しました。その結果、*T. theileri* 感染によりいくつかの血液成分値及び乳成分値が有意に低下することが明らかになりました。これらの結果は *T. theileri* 感染によって採食後の栄養吸収性が低下していることを意味しています。すなわち、これまで低病原性とされてきた *T. theileri* 感染が家畜生産性を低下させることが明らかになり、それを媒介する吸血昆虫(アブなど)とともに対策が必要であることが示唆されました(論文リスト4)(帯広畜産大学人間科学研究部門および米コーネル大学との共同研究)。

#### 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

- ・ 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

該当なし

## 6. 2021 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. Keisuke Suganuma, Tomás J Acosta, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Antonio Rodríguez Sanchez, Ehab Mossaad, Afraa Elata, Noboru Inoue. First molecular survey of animal trypanosomes in Paraguayan horses. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2022; 27: 100664. PMID: 35012722.
2. Linous Munsimbwe, Keisuke Suganuma, Yoshinobu Ishikawa, Kennedy Choongo, Takashi Kikuchi, Izumi Shirakura, Toshihiro Murata. Benzophenone glucosides and B-type proanthocyanidin dimers from Zambian *Cassia abbreviata* and their trypanocidal activities. **Journal of Natural Products**. 2022; 85(1): 91–104. PMID: 34965114.
3. Rawan A Satti, Eman A Awadelkareem, Keisuke Suganuma, Bashir Salim, Noboru Inoue, Xuenan Xuan, Suheir Rehan, Ehab Mossaad. Cattle anaplasmosis and babesiosis: Major tick-borne diseases affecting the cattle industry in Khartoum State, Sudan. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2021; 26: 100632. PMID: 34879943.
4. Keisuke Suganuma\*, Mitsunori Kayano, Jatsuya Kida, Yrjö T Gröhn, Ryotaro Miura, Yuma Ohari, Daiki Mizushima, Noboru Inoue. Genetic and seasonal variations of *Trypanosoma theileri* and the association of *Trypanosoma theileri* infection with dairy cattle productivity in Northern Japan. **Parasitology International**. 2022; 86: 102476. PMID: 34610467.
5. Mirza Synthia Sabrin, Erdenechimeg Selenge, Yohei Takeda, Javzan Batkhuu, Haruko Ogawa, Dulamjav Jamsransuren, Keisuke Suganuma, Toshihiro Murata. Isolation and evaluation of virucidal activities of flavanone glycosides and rosmarinic acid derivatives from *Dracocephalum* spp. against feline calicivirus. **Phytochemistry**. 2021; 191: 112896. PMID: 34371301.
6. Oluoyomi Stephen Adeyemi, Nthati Innocentia Molefe-Nyembe, Abiodun Omokehinde Eseola, Winfried Plass, Oluwatosin Kudirat Shittu, Ibrahim Olatunji Yunusa,

- Olubunmi Atolani, Ikponmwosa Owen Evbuomwan, Oluwakemi J Awakan, **Keisuke Suganuma**, Kentaro Kato. New series of imidazoles showed promising growth inhibitory and curative potential against *Trypanosoma* Infection. **The Yale journal of biology and medicine**. 2021; 94: 199–207. PMID: 34211341.
7. Linous Munsimbwe, Anna Seetsi, Boniface Namangala, David D N'Da, Noboru Inoue, **Keisuke Suganuma\***. *In vitro* and *in vivo* trypanocidal efficacy of synthesized nitrofurantoin analogs. **Molecules**. 2021; 26: 3372. PMID: 34199682.
  8. Yusuke Tanaka, **Keisuke Suganuma**, Kenichi Watanabe, Yoshiyasu Kobayashi. Pathology of female mice experimentally infected with an *in vitro* cultured strain of *Trypanosoma equiperdum*. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 2021; 83: 1212–1218. PMID: 34135196.
  9. Koichi Narita, **Keisuke Suganuma**, Toshihiro Murata, Ryutaro Kondo, Hiroka Satoh, Kazuhiro Watanabe, Kenroh Sasaki, Noboru Inoue, Yuichi Yoshimura. Synthesis and evaluation of trypanocidal activity of derivatives of naturally occurring 2,5-diphenyloxazoles. **Bioorganic & Medical Chemistry**. 2021; 42: 116253. PMID: 34130218.
  10. Batsukh Odonbayar, Bumduuren Tuvshintulga, Naoaki Yokoyama, Duger Badral, Buyanmandakh Buyankhishig, Javzan Batkhuu, **Keisuke Suganuma**, Ikuo Igarashi, Kenroh Sasaki, Toshihiro Murata. Anti-piroplasma activity of 2-methylbutane galloyl glycosides from *Saxifraga spinulosa*. **Phytochemistry Letters**. 2021; 43: 135–139.
  11. Ehab Mossaad, Alex Gaithuma, Yassir O Mohamed, **Keisuke Suganuma**, Rika Umemiya-Shirafuji, Yuma Ohari, Bashir Salim, Mingming Liu, Xuenan Xuan. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens in cattle from Khartoum State and East Darfur State, Sudan. **Pathogens**. 2021; 10: 580. PMID: 34068782.
  12. Melanny Ika Sulistyowaty, Nguyen Hoang Uyen, **Keisuke Suganuma**, Ben-Yeddy Abel Chitama, Kazuhide Yahata, Osamu Kaneko, Sachiko Sugimoto, Yoshi Yamano, Susumu Kawakami, Hideaki Otsuka, Katsuyoshi Matsunami. Six new phenylpropanoid derivatives from chemically converted extract of *Alpinia galanga* (L.) and their antiparasitic activities. **Molecules**. 2021; 26: 1756. PMID: 33801067.
  13. Afraa Elata, **Keisuke Suganuma\***, Ehab Mossaad, Iqra Zafar, Eloiza May Galon, Keiichiro Yoshimoto, Tohru Tanaka, Xuan xuenan, Shin-Ichiro Kawazu\*. Evaluation of 5-aminolevulinic acid plus ferrous ion for its potential to improve symptoms of bovine babesiosis. **Parasitologia**. 2021; 1: 218–224.

## 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. 2019年度 若手研究（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、2019年度～2021年度
2. 2021年度 基盤研究（B）（文部科学省）、人獣近接地域伝承薬の化学分析と病原体及び媒介者対策を軸とした感染症制圧シーズ発掘（21H02638）、分担、2021年度～2025年度
3. 2021年度 研究助成（伊藤記念財団）、映像解析技術を用いたアブの吸血行動の定量的解析による病原体媒介リスクの可視化、代表、2021年度
4. 2021年度 研究助成「感染症媒介節足動物及び外来動物」（大下財団）、北海道十勝地方における吸血性アブ類による病原体媒介リスクの解析、代表、2021年度
5. 2021年度 研究助成-感染症領域-【若手研究者】（MSD 生命科学財団）、アフリカトリパノソーマ症経口治療薬開発にむけた探索と検証、代表、2022/1～2023/12
6. 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～2021年度
7. 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、2020年度～2022年度
8. 共同研究 長崎大学・キッコーマン株式会社、アスコフラノンの動物トリパノソーマ症に対する治療効果の評価、代表、2021年度～2022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. 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シ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、2021年4月1日～2022年3月31日、2021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, 2021年4月1日～2022年3月31日、2021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, 2021年4月1日～2022年3月31日、2021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, 2021年4月1日～2022年3月31日、2021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, 2021年4月1日～2022年3月31日、2021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。

獣医領域における、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

- ・ トキソプラズママー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

### 3. 2021年度研究の総括

- ・ 日本国内におけるトキソプラズマ症について、既報の論文をもとに概要をまとめました（総説リスト1）。
- ・ エジプトミヌーフィーヤ県のバッファローにおける牛鉤虫の保有状況について調査を行いました（論文リスト1）。
- ・ 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2）。

### 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
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 日本獣医寄生虫学会評議員
- ・ 日本寄生虫学会評議員

#### 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. 2021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. Mahmoud AbouLaila, **Makoto Igarashi**, Ahmed ElKhatam, Soad Menshawy. Gastrointestinal nematodes from buffalo in Minoufiya Governorate, Egypt with special reference to *Bunostomum phlebotomum*. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports** 2022; 27:100673. PMID: 35012729.
2. 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.

#### 総説

1. Abdelbaset E Abdelbaset, Mostafa F N Abushahba, **Makoto Igarashi**. *Toxoplasma gondii* in humans and animals in Japan: An epidemiological overview. **Parasitology International** 2022; 87: 102533. PMID: 34968753.

#### 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. 2021 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。昨年度は新規赤血球改変分子として 2 つの分子 VEAP 並びに MTM を同定しました。今年度は日本に分布する低病原性のウシバベシア原虫である *B. ovata* を対象に、*B. ovata* VEAP, さらに MTM に類似したタンパク質構造を持つ MFS について解析を行い、両分子が共に原虫感染赤血球側に局在する分子であることを明らかにしました(麻田ら、人獣共通感染症研究拠点 研究シンポジウム)。また、先端予防治療学分野のハキミ・ハッサン博士と共同研究を行い、バベシア原虫メロゾイトの遊出を阻害する薬剤の探索や赤内期原虫の同期化を試みました(論文リスト 4)。さらに、バベシア原虫のゲノム改変法に関する総説を執筆しました(総説リスト 1)。
- ・ 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。長崎大学・熱帯医学研究所の金子修博士と共同研究を行い、CDPK や APH といった原虫の侵入に関わる分子の詳細な機能解析を行いました(論文リスト 2,5)。さらに、2012 年に麻田らはバベシア原虫メロゾイトの滑走運動を発表しましたが、当時マラリア原虫メロゾイトは滑走運動を行わないというのが定説でした。しかしながら、長崎大学・熱帯医学研究所の矢幡一英博士らはマラリア原虫のタイムラプス解析を重ねることにより、マラリア原虫も滑走運動を行う事を発見し、報告を行いました(論文リスト 1)。

#### 4. 学会等の活動状況

##### ① 所属学会等、役職等

- ・ 日本寄生虫学会評議員・情報処理広報委員会委員
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 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. 2021 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. Kazuhide Yahata, Melissa N Hart, Heledd Davies, **Masahito Asada**, Samuel C Wassmer, Thomas J Templeton, Moritz Treeck, Robert W Moon, Osamu Kaneko. Gliding motility of *Plasmodium* merozoites. **The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 2021; 118(48): e2114442118. PMID: 34819379.
2. Nattawat Chaiyawong, Takahiro Ishizaki, Hassan Hakimi, **Masahito Asada**, Kazuhide Yahata, Osamu Kaneko. Distinct effects on the secretion of MTRAP and AMA1 in *Plasmodium yoelii* following deletion of acylated pleckstrin homology domain-containing protein. **Parasitology International**. 2022; 86: 102479. PMID: 34628068.
3. Tsukasa Waki, Minoru Nakao, Mizuki Sasaki, Hiromi Ikezawa, Ken Inoue, Yuma Ohari, Yuichi Kameda, **Masahito Asada**, Haruki Furusawa, Shinsuke Miyazaki. *Brachylaima phaedusae* n. sp. (Trematoda: Brachylaimidae) from door snails in Japan. **Parasitology International**. 2022; 86: 102469. PMID: 34534656.

4. Hassan Hakimi, **Masahito Asada**, Takahiro Ishizaki, Shinichiro Kawazu. Isolation of viable *Babesia bovis* merozoites to study parasite invasion. **Scientific Reports**. 2021; 11(1): 16959. PMID: 34417510.
5. Takahiro Ishizaki, **Masahito Asada**, Hassan Hakimi, Nattawat Chaiyawong, Yuto Kegawa, Kazuhide Yahata, Osamu Kaneko. cAMP-dependent protein kinase regulates secretion of apical membrane antigen 1 (AMA1) in *Plasmodium yoelii*. **Parasitology International**. 2021; 85: 102435. PMID: 34390881.
6. Shiomi Koudatsu, Tatsunori Masatani, Rikako Konishi, **Masahito Asada**, Hassan Hakimi, Yuna Kurokawa, Kanna Tomioku, Osamu Kaneko, Akikazu Fujita. Glycosphingolipid GM3 is localized in both exoplasmic and cytoplasmic leaflets of *Plasmodium falciparum* malaria parasite plasma membrane. **Scientific Reports**. 2021; 11(1): 14890. PMID: 34290278.
7. Mingming Liu, Shengwei Ji, Daisuke Kondoh, Eloiza May Galon, Jixu Li, Mizuki Tomihari, Masashi Yanagawa, Michihito Tagawa, Mami Adachi, **Masahito Asada**, Ikuo Igarashi, Aiko Iguchi, Xuenan Xuan. Tafenoquine Is a Promising Drug Candidate for the Treatment of Babesiosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2021; 65(7): e0020421. PMID: 33941516.

## 総説

1. Hassan Hakimi, **Masahito Asada**, Shin-Ichiro Kawazu. Recent advances in molecular genetic tools for *Babesia*. **Veterinary Sciences**. 2021; 8(10): 222. PMID: 34679052.

## 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 3 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)、家畜住血微生物病の新規制御法創出に向けたマラリア原虫・他住血微生物相互作用の解明 (21KK0121)、代表、令和 3 年度～令和 6 年度
2. 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

3. 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
4. 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
5. 北海道大学 人獣共通感染症国際共同研究所一般共同研究、バベシア Major Facilitator Superfamily の局在・機能解析、代表、令和3年度
6. 長崎大学 熱帯医学研究拠点一般共同研究 タイムラプスイメージングによる Babesia bovis p200 の機能解析、代表、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. 山岸 潤也; 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所：非固有宿主への馴化とゲノム解析によるバベシア原虫の宿主域決定分子構造の解明、2021年4月1日～2022年3月31日、2021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、2021年4月1日～2022年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究