

8. 教員の研究活動

先端治療学分野

◆-----教授 鈴木宏志
(Hiroshi Suzuki)

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、ミトコンとして機能し、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 が、マウスマラリア原虫 *P. yoelii* 17XL や *P. berghei* 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ています。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。

さらに、これら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。

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。

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LHサージ後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でした。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巢・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。以上のように、18MHzリニアプローブを用いた排卵プロセスの経時的観察によって、排卵開始から完了までのプロセスを初めて明らかにしました。

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しています。タイムラプスを用いた観察から、ある培養条件下では、雌胚よりも雄胚の方が卵割（発生）が速いことが認められました。これらの成績は、非侵襲的な胚の性別法の開発につながることを期待されます。

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

3. 2022 年度研究の総括

- ・ マラリア原虫は、酸化ストレスに弱いことが知られています。そこで、ミトコンとして知られているビタミン E 誘導体 α -tocopheryloxy acetic acid (α -TEA) が、*P. berghei* ANKA および *P. falciparum* による感染に対して、それぞれ、マウスおよびヒト赤血球 (RBC) を用いて、どのような影響を与えるかを検討しました。マウスを用いた *in vivo* 実験では、*P. berghei* ANKA に感染した赤血球を C57BL/6J 雄マウスに腹腔内注射で接種した後に α -TEA を投与しました。1.5%の濃度の α -TEA を感染後 14 日間投与したところ、*P. berghei* ANKA 感染マウスの 88%が生存しましたが、 α -TEA を投与していないコントロールマウスは感染後 12 日以内にすべて死亡しました。また、感染後 7 日目にエバンスブルー染色により血液脳関門 (BBB) 透過性を調べたところ、 α -TEA を投与したマウスの脳内のエバンスブルー強度は、無投与のマウスに比べて小さく、 α -TEA が BBB の破壊と脳マラリアの進行を抑制する可能性が示されました。さらに、*P. falciparum* 3D7 (クロロキン感受性株) および K1 (多剤耐性株) に対する α -TEA の *in vitro* 阻害効果を SYBR Green I ベースのアッセイを用いて検討したところ、 α -TEA が 3D7 株と K1 株の両方の増殖を抑制することが明らかとなりました。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。
- ・ 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、昨年度、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たところ、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を見出しました。本年度は、IAS と eCG の混合投与による発情誘起後に交配実験を実施し、妊孕能の有無を検証しました。交配を試みた雌 6 例のうち 3 例が妊娠・分娩に至り、産仔数はそれぞれ 1 頭、4 頭、11 頭で、全 6 例の妊娠率は 50%、平均産仔数は 2.7 頭との成績でした。妊娠例と非妊娠例を比較すると、妊娠例では平均 10.7 個排卵したのに対し、非妊娠例では平均 18.3 個と 7 個以上多い結果でした。また、非妊娠例の P₂ 濃度は LH₂ 以降、妊娠例の 1.8~3.0 倍高く、E₂ 濃度は LH サージの 3 日前から 2.0~2.8 倍高いレベルを維持していました。さらに、非妊娠例は自然発情時と比較しても LH サージ前後の P₄ および E₂ 濃度が有意に高いことが明らかとなり、P₄ および E₂ の非生理的上昇が妊娠を阻害する可能性が示唆されました。今後は、適切な P₄ および E₂ 濃度を維持できる IAS 投与量を検討していく予定です。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本卵子学会常任理事・広報担当
- ・ 日本熱帯医学会評議員
- ・ 日本繁殖生物学会評議員
- ・ 日本寄生虫学会評議員
- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 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

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
- ・ 科学研究費委員会専門委員

6. 2022 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, Souichirou Naomasa, Bumduuren Tuvshintulga, Nariko Sato, Kiyoshi Okado, Weiqing Zheng, Seung-Hun Lee, Juan Mosqueda, **Hiroshi Suzuki**, Xuenan Xuan, Rika Umemiya-Shirafuji. Identification and Characterization of *Rhipicephalus microplus* ATAQ Homolog from *Haemaphysalis longicornis* Ticks and Its Immunogenic Potential as an Anti-Tick Vaccine Candidate Molecule. **Microorganisms**. 2023 Mar; 11(4): 822. PMID: 37110244
2. Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Benedicto Byamukama, Maria Tumwebaze, Xuenan Xuan, **Hiroshi Suzuki**. Molecular Characterization of Octopamine/Tyramine Receptor Gene of Amitraz-Resistant *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* Ticks from Uganda. **Microorganisms**. 2022 Nov; 10(12): 2384. PMID: 36557637
3. Shinji HaraKawa, Takuya Hori, Takao Hiramoto, Takaki Nedachi, Toshikazu Shinba, **Hiroshi Suzuki**. Suppression of Glucocorticoid Response in Stressed Mice Using 50

- Hz Electric Field According to Immobilization Degree and Posture. **Biology (Basel)**. 2022 Sep; 11(9): 1336. PMID: 36138815
- Nanang R Ariefta, Aiko Kume, Yoshifumi Nishikawa, Tomoyo Taniguchi, Rika Umemiya-Shirafuji, Shunji Kasai, **Hiroshi Suzuki**. Effect of α -tocopheryloxy acetic acid on the infection of mice with *Plasmodium berghei* ANKA *in vivo* and humans with *P. falciparum* *in vitro*. **Acta Parasitologica**. 2022 Aug 11. PMID: 35951222
 - Maki Kuniyori, Nariko Sato, Naoaki Yokoyama, Shin-Ichiro Kawazu, Xuenan Xuan, **Hiroshi Suzuki**, Kozo Fujisaki, Rika Umemiya-Shirafuji. Vitellogenin-2 Accumulation in the Fat Body and Hemolymph of *Babesia*-Infected *Haemaphysalis longicornis* Ticks. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Jun; 12: 908142. PMID: 35800383

総説

- 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.
- Mototada Shichiri, **Hiroshi Suzuki**, Yuji Isegawa, Hiroshi Tamai. Application of regulation of reactive oxygen species and lipid peroxidation to disease treatment. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**. 2023 Jan; 72(1): 13-22. PMID: 36777080

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）

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）

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. 2022年度研究の総括

- ・ **感染による中枢神経系の機能破綻メカニズムの解明**

「ネオスポラ感染による脳病変を抑える細胞群を発見」(論文リスト1)

ネオスポラの感染は畜産業に多大な経済的損失をもたらすことから、その対策には病態発症機構の解明が重要となります。ネオスポラ症の主徴は流産と神経症状はであり、その病態には宿主の免疫応答が深く関わっています。今回、CXCR3 ノックアウト (CXCR3KO) マウスを用いた感染モデルにおいて CXCR3 の役割を解析し、CXCR3 陽性制御性 T 細胞が脳病変の抑制に重要であることを見出しました。従って、過剰な炎症反応を適切に制御することで宿主動物の致死的な影響を回避できることが示され、新規ワクチンの開発につながることを期待されます。本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) の研究助成(21fk0108137h)、挑戦的研究(萌芽) (20K21359)、基盤研究(B) (21H02353) の研究費で実施しました。

- ・ **天然物からの抗原虫薬の探索**

「エジプトの野生薬用植物エキスはトキソプラズマとネオスポラの増殖抑制効果を持つ」

(論文リスト4)

野生の薬用植物は、伝統的に抗菌剤として使用されてきました。今回、エジプトの砂漠の野生植物の抽出エキスからトキソプラズマとネオスポラの増殖抑制効果を持つ種類を見出しました。その中でもヨモギ (*Artemisia judaica*)、フウチョウソウ (*Cleome droserifolia*) のエキスについては強力な効果を示したため、これら感染症の代替治療薬の生物資源となる可能性が示されました。本研究は South Valley 大学 (エジプト) との共同研究の成果であり、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。

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・学術担当理事・学術委員会委員長
- ・ 日本寄生虫学会理事
- ・ 日本寄生虫学会北日本支部役員・庶務委員
- ・ 日本寄生虫学会北日本支部役員・理事

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. 2022 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. Hanan H Abdelbaky, Shuichiro Mitsuhashi, Kenichi Watanabe, Nanako Ushio, Miku Miyakawa, Hidefumi Furuoka, Yoshifumi Nishikawa*. Involvement of chemokine receptor CXCR3 in the defense mechanism against *Neospora caninum* infection in C57BL/6 mice. **Frontiers in Microbiology**. 2023 Jan; 13: 1045106. PMID: 36704563
2. Ruenruetai Udonsom, Onrapak Reamtong, Poom Adisakwattana, Supaluk Popruk, Charoonluk Jirapattharasate, Yoshifumi Nishikawa, Tawin Inpankaew, Jitbanjong Toompong, Manas Kotepui, Aongart Mahittikorn. Immunoproteomics to identify species-specific antigens in *Neospora caninum* recognised by infected bovine sera.

- Parasite.** 2022 Dec; 29: 60. 2022;29:60. PMID: 36562441.
3. Nanang R Arieftha, Aiko Kume, **Yoshifumi Nishikawa**, Tomoyo Taniguchi, Rika Umemiya-Shirafuji, Shunji Kasai, Hiroshi Suzuki. Effect of α -tocopheryloxy acetic acid on the infection of mice with *Plasmodium berghei* ANKA *in vivo* and humans with *P. falciparum* *in vitro*. **Acta Parasitologica.** 2022 Aug; 67(4): 1514-1520. PMID: 35951222.
 4. Ahmed M Abdou, Abdel-Latif S Seddek, Noha Abdelmageed, Mohamed O Badry, **Yoshifumi Nishikawa***. Extracts of wild Egyptian plants from the desert inhibit the growth of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* *in vitro*. **Journal of Veterinary Medical Science.** 2022 Jul; 84(7): 1034-1040. PMID: 35661076
 5. 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.** 2022 May; 22(1): 130. PMID: 35550108

総説（*責任著者）

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

1. 細胞内寄生原虫トキソプラズマによる宿主・マニピュレーション. 第 21 回 ERATO 共生進化機構先端セミナー、オンライン、2022 年 12 月 21 日
2. トキソプラズマ原虫による宿主・マニピュレーション. 公開シンポジウム 延長された表現型の機構解明～生物がいかにして他の生物を改変、操作するのか～、産業技術総合研究所つくば中央共用講堂（茨城県つくば市）、2023 年 2 月 19 日

9. 獲得研究費

1. 令和 4 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 4 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 4 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4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4年度(2022年度) 基盤研究（C）（一般）（文部科学省）、寄生虫感染とシリコーンオイル使用眼で観察される網膜障害の原因はフェロトシスか?（22K09810）、分担、令和4年度～令和6年度
 6. 令和4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4年度
 7. 令和4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. 毎日新聞・科学の森「宿主操り生き延びる寄生生物」2022年7月14日
<https://mainichi.jp/articles/20220714/ddm/016/040/019000c>
2. 日本経済新聞・「（科学の絶景）オオカミを操る寄生体 群れのボス指名、野心あおる」
2022年12月3日
<https://www.nikkei.com/article/DGXZQOUC291KE0Z21C22A1000000/>
3. テレビ朝日・木曜ドラマ「警視庁アウトサイダー」2023年2月2日、西川研究室が提供した「トキソプラズマの動画」を使用したドラマの放映

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. 兼子 裕規：名古屋大学医学部付属病院眼科、トキソプラズマ感染における頭頸部感覚器フェロトシスの研究、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究
3. 長谷 耕二：慶應義塾大学薬学部生化学講座、妊娠期のトキソプラズマ感染防御における $\gamma\delta$ T細胞の役割の解析、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共

同研究

4. 杉 達紀：北海道大学・人獣共通感染症 リサーチセンター、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、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究
5. 二瓶 浩一：公益財団法人微生物化学研究会微生物化学研究所、抗原虫作用を示す機化研由来天然化合物における分子標的の解析、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究
6. 錦織 充広：福岡大学 理学部 化学科、トキソプラズマ分泌タンパク質の宿主ミトコンドリア機能に対する影響解析、2022年4月1日～2023年3月31日、2022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、いずれの動物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（WOAH）から、“牛バベシア病”と“馬ピロプラズマ病”に関する WOAH 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拡充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病の分子疫学および臨床病理学研究
- ・ 野生シカが保有するピロプラズマの分子疫学研究
- ・ ピロプラズマの媒介マダニに関する疫学研究
- ・ 牛および馬ピロプラズマ病の診断法、治療薬、および予防法の確立に向けた基礎研究
- ・ 人バベシア病に関する国際疫学研究

3. 2022 年度研究の総括

- ・ パラグアイの馬における馬ピロプラズマの感染疫学調査：馬ピロプラズマ病は *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原虫病です。本疾病は世界的に広く発生が見られ、しばしば馬産業に重大な経済的被害をもたらしますが、パラグアイの疫学情報は不明のままでした。そこで、パラグアイ 16 州で飼育されていた計 545 頭の馬から血液を回収し、*T. equi* と *B. caballi* の感染について PCR スクリーニング診断を行いました。その結果、32.7%と 1.5%の馬が、それぞれ *T. equi* と *B. caballi* に感染していたことが示されました。本研究の成果により、パラグアイにも *T. equi* と *B. caballi* が定着しており、かつ *T. equi* の感染率が *B. caballi* よりも高いことが明らかとなりました。本研究は、パラグアイ (Centro de Diagnostico Veterinario, Universidad Nacional de Canendiyu) との国際共同研究として実施しました。
- ・ スリランカのロバにおける馬ピロプラズマの感染疫学調査：馬ピロプラズマ病は、馬、ロバ、シマウマ、ラバなどのウマ科動物が *Theileria equi* と *Babesia caballi* に感染することによって引き起こされます。スリランカ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、放し飼い口バを対象に、*T. equi* と *B. caballi* の感染疫学調査を実施しました。スリランカ 2 地区の口バ計 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、*T. equi* および *B. caballi* 感染の PCR スクリーニング診断を行いました。その結果、57.7%および 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* による馬ピロプラズマ病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。

- ・ エジプトのラクダにおけるバベシア、タイレリア、トリパノソーマ、アナプラズマの感染疫学調査：ラクダはエジプトにおいて経済的に重要な家畜動物です。本研究では、エジプトのラクダにおけるバベシア、タイレリア、トリパノソーマ、アナプラズマの感染状況を調べるために、エジプト 6 県で飼育されていた計 148 頭のラクダの血液を PCR スクリーニング診断しました。その結果、19.6%、14.9%、0.7%、1.4%、0.7%、1.4%、および 18.9%のラクダが、それぞれ *Babesia bovis*、*B. bigemina*、*Babesia* sp. Mymensingh、*Theileria* sp. Yokoyama、*Theileria equi*、*Trypanosoma evansi*、および *Anaplasma marginale* に感染していました。この成果は、*Babesia* sp. Mymensingh と *Theileria* sp. Yokoyama の感染をエジプトおよびラクダで診断した最初の報告となりました。本研究は、エジプト (Sohag University, Assiut University) との国際共同研究として実施しました。
- ・ 新たな系統解析による *Babesia* sp. Mymensingh の新学名の決定 (*Babesia naoakii*)：最近我々が発見した高病原性バベシア種 (*Babesia* sp. Mymensingh) は世界に広く分布することが分かってきました。本研究では、*Babesia* sp. Mymensingh のミトコンドリア、プラスチド、核の遺伝子群を解析し、本原虫種の系統学的位置を検証しました。その結果、本原虫種は既存バベシア種とは異なるユニークな系統学的位置を占め、かつ *Babesia bigemina* と *B. ovata* の共通の祖先の姉妹クレードを形成することが明らかとなりました。形態学的並びに遺伝学的特徴から、我々は本原虫種を新たな学名として "*Babesia naoakii*" と名付けました。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

- ・ 牛臨床寄生虫研究会

② 主催した学会、研究会等

- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (KRIV-NRCPD) 「The molecular epidemiology of hemopathogens infecting cattle in Kyrgyzstan」、原虫病研究センター/キルギス獣医学研究所（オンライン）、2023年2月20日
- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (VRI-NRCPD) 「スリランカにおける牛・馬ピロプラズマ病の発生と対策」、スリランカ獣医学研究所（キャンディー）、2023年3月23日

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ WOAH リファレンスラボラトリー「牛バベシア病」専門家
- ・ WOAH リファレンスラボラトリー「馬ピロプラズマ病」専門家
- ・ WOAH 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
- ・ 沖縄牧野へのダニ侵入防止事業・技術検討会（沖縄県）・技術検討委員

6. 2022 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. 森 菜々美、Thillaiampalam Sivakumar, 水谷 友香、松井 伸一、河合 孝弘、白藤 梨可、猪熊 壽、**横山 直明**（2023）：日本には2種類の牛大型ピロプラズマ（牛バベシア）が存在する、**牛臨床寄生虫研究会誌**、第13巻、第1号、p22
2. 林田 京子、白藤 梨可、杉本 千尋、**横山 直明**（2023）：ウシ化マウス感染モデルを用いた小型ピロプラズマ原虫のマダニ体内感染動態の解明、**牛臨床寄生虫研究会誌**、第13巻、第1号、p23-27
3. Believe Ahedor, Thillaiampalam Sivakumar, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Davaajav Otgonsuren, **Naoaki Yokoyama**, Tomás J Acosta. PCR detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in apparently healthy horses in Paraguay. **Veterinary Parasitology, Regional studies and Reports**. 2023 Jan; 39: 100835. PMID: 36878622
4. Thillaiampalam Sivakumar, Bumduuren Tuvshintulga, Davaajav Otgonsuren, Enkhbaatar Batmagnai, Believe Ahedor, Hemal Kothalawala, Singarayar Caniciyas Vimalakumar, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Junya Yamagishi, **Naoaki Yokoyama**. Phylogenetic analyses of the mitochondrial, plastid, and nuclear genes of *Babesia* sp. Mymensingh and its naming as *Babesia naoakii* n. sp. **Parasites & Vectors**. 2022 Aug; 15(1): 299. PMID: 36002908

5. Amarin Rittipornlertrak, Boondarika Nambooppha, Anucha Muenthaisong, Nisachon Apinda, Pongpisid Koonyosying, Wanwisa Srisawat, Paweena Chomjit, Kanokwan Sangkakam, Veerasak Punyapornwithaya, Saruda Tiwananthagorn, **Naoaki Yokoyama**, Nattawooti Sthitmatee. Immunization of Cattle With Recombinant Structural Ectodomains I and II of *Babesia bovis* Apical Membrane Antigen 1 [BbAMA-1(I/II)] Induces Strong Th1 Immune Response. **Frontiers in Veterinary Science**. 2022 Jun; 9: 917389. PMID: 35812841
6. Maki Kuniyori, Nariko Sato, **Naoaki Yokoyama**, Shin-Ichiro Kawazu, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki, Kozo Fujisaki, Rika Umemiya-Shirafuji. Vitellogenin-2 Accumulation in the Fat Body and Hemolymph of *Babesia*-Infected *Haemaphysalis longicornis* Ticks. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Jun; 12: 908142. PMID: 35800383
7. Doaa Salman, Thillaiampalam Sivakumar, Davaajav Otgonsuren, Motamed E Mahmoud, Ehab Kotb Elmahallawy, Arafat Khalphallah, Ahmed M E Y Kounour, Sara A Bayomi, Makoto Igarashi, **Naoaki Yokoyama**. Molecular survey of *Babesia*, *Theileria*, *Trypanosoma*, and *Anaplasma* infections in camels (*Camelus dromedaries*) in Egypt. **Parasitology International**. 2022 Oct; 90:102618. PMID: 35777654
8. Believe Ahedor, Hemal Kothalawala, Ratnam Kanagaratnam, Singarayar Caniciyas Vimalakumar, Davaajav Otgonsuren, Bumduuren Tuvshintulga, Enkhbaatar Batmagnai, 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 Apr; 99:105244. PMID: 35149223

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. WOAH 学術セミナーの開催 : ケニア、モンゴル、キルギス、インド、スリランカ、パラグアイ、北海道大学・卓越大学院、農林水産省・動物衛生課、農林水産省・動物検疫所、熊本県畜産農業協同組合連合会、苫小牧東高校 (17 件)
2. WOAH 技術トレーニング研修会の開催 : モンゴル、ケニア、農林水産省・動物検疫所、北海道大学・卓越大学院 (5 件)
3. 海外からの WOAH 診断依頼 : イギリス、ドイツ、アメリカ、ニュージーランド、モンゴル、

- スリランカ（14件；343検体）
4. 国内からの WOH 診断依頼：北海道、宮城、熊本、沖縄（16件；1,002検体）
 5. WOH コンサルティング依頼：イギリス、アイルランド、オランダ、フランス、トルコ、南アフリカ、モンゴル、インド、キルギス、スリランカ、ニュー・カレドニア、オーストラリア、カナダ、アメリカ、アルゼンチン、チリ、日本（47件）
 6. WOH 診断用の試料提供（IFAT スライド）：フランス、イギリス、アイルランド、オランダ、カナダ、アルゼンチン、日本（10件；4,266枚）
 7. WOH 診断用の試料提供（DNA）：オランダ、南アフリカ（2件；4本）
 8. インターンシップの受入：スウェーデン、キルギス、モンゴル、メキシコ、パラグアイ、日本（6件、7名）
 9. 国際疫学調査研究の受入：キルギス、モンゴル、スリランカ、インド、エジプト、マラウイ、アルゼンチン、パラグアイ（8カ国）
 10. WOH 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 WOH 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 WOH に提出（2023年1月）

8. 招待講演等

1. 「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・動物衛生研究部門（つくば）、2022年6月20日
2. 「Bovine babesiosis~Role of WOH reference laboratory~」人獣共通感染症対策専門家特論、北海道大学・卓越大学院（オンライン）、2022年9月12日
3. 「寄生虫病学はおもしろい！」出前講義、苫小牧東高校（苫小牧）、2022年11月11日
4. 「WOH リファレンスラボラトリーの活動紹介と解決すべき問題点」所内・金曜会セミナー、農林水産省・動物検疫所（横浜）、2022年12月22日
5. 「牛小型ピロプラズマ病の現状と対策について」令和4年度肉用牛講演会、熊本県畜産農業協同組合連合会（熊本）、2023年2月3日
6. 「牛小型ピロプラズマ病の対策について」酪農部講習会、茶安別地域振興会酪農部（標茶）、2023年2月14日

9. 獲得研究費

1. 令和4年度 家畜衛生対策事業（農林水産省・消費・安全局）「我が国の WOH 認定施設活動支援事業」、代表、令和4年度
2. 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4年度（延長）
3. 令和4年度 基盤研究（B）（文部科学省）「牛小型ピロプラズマ病を引き起こす牛タイレリアの生体内増殖メカニズムの解明」（22H02511）、代表、令和4年度～令和6年度
4. 令和4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）「馬ピロプラズマ病

- に対する国際標準血清診断法の開発に向けた学術基盤研究」(22KK0095)、代表、令和4年度～令和6年度
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4年度(延長)
 6. 令和4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)「新牛タイレリア(*Theileria* sp. Yokoyama)の分離と性状解析」、代表、令和4年度～令和5年度
 7. 令和4年度 特別研究員奨励費(文部科学省)「動物及びヒトのバベシア病の治療薬開発に向けた海洋生物由来の活性化化合物の探索研究」(22F22402)、受入研究者(Guswanto)、令和4年度～令和6年度
 8. 令和4年度 外国人研究者招へい事業・調査研究費(日本学術振興会)「馬ピロプラズマ病に対する新たな血清診断法の開発に向けた原虫分離の試み」、受入研究者(BATTSETSEG Badgar)、令和4年度
 9. 令和4年度 外国人研究者招へい事業・調査研究費(日本学術振興会)「*In vitro* assessment of plant-derived medicines for the treatment of piroplasm infections」、受入研究者(Daniel Kent Erik BERGMAN)、令和4年度
 10. 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
 11. 令和4年度 WOA 検査診断経費(帯広畜産大学)

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. Elisha Chatanga: 「Molecular detection and genetic characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses and donkeys in Malawi」 Lilongwe University of Agriculture & Natural Resources, Malawi, 2022年度原虫病研究センター共同研究
6. Sanjay Kumar: 「Genetic diversity of *Theileria equi* infecting equines in India and quantification of parasite loads」 ICAR-National Research Centre on Equines, India, 2022年度原虫病研究センター共同研究

◆-----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、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」（2017～2021年度）で整備した、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について、その拡充を進めています。

2. 主な研究テーマ

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

3. 2022年度研究の総括

- ・ 雌ダニがバベシア感染動物で吸血すると、バベシアは雌ダニ中腸内腔で有性生殖、中腸上皮細胞内で無性生殖を行い、体液（ヘモリンフ）に乗って各組織に到達します。一部のバベシアは卵巣内の卵母細胞に侵入し、胚発生後の幼ダニ体内に残存します。この幼ダニが次の宿主動物へのバベシア感染源となります（介卵伝播）。マダニにおけるバベシアの介卵伝播は実験的に証明されていますが、その分子機構は未だ不明です。本研究では、バベシア伝播においてカギとなるマダニ因子を見つけることを目的として、マダニの卵形成において重要なイベントである卵黄タンパク質前駆体（ビテロジェニン；Vg）合成とVgの取り込みに関わる分子に注目しました。人工吸血法によりバベシア感染マダニを作出し、吸血完了（飽血）後経日的に回収した各組織を用いて、Vg合成関連遺伝子とVg取り込み関連遺伝子について発現パターンを解析しました。その結果、非感染マダニに比べ、①バベシア感染マダニの脂肪体では、Vg-2およびVg-3の発現レベルが飽血後1日目に有意に低下、②バベシア感染マダニの卵巣では、Vg-2発現は飽血後1、2日目に有意に高く、飽血後3日後には低下、③VgRは飽血後2日目および4日目において顕著に低下することが明らかになりました。次に、各組織のタンパク質

抽出液を用いたウェスタンブロットにより、バベシア感染マダニの脂肪体およびヘモリンフに Vg-2 が蓄積することを見出しました。これらの結果から、ヘモリンフから卵巣への Vg-2 の取り込みが、バベシアの存在下で抑制されることが推測されました。さらに、Vg-2 遺伝子発現抑制マダニでは、対照群と比較して、卵巣におけるバベシア DNA の検出率が低下し、また、ヘモリンフ中のバベシア DNA レベルが有意に低下しました。以上のことから、蓄積した Vg-2 がマダニ体内でのバベシア伝播に関連することが示唆されました（論文リスト 5）。

- ・ 抗マダニワクチンは中南米において現在市販されており、マダニ対策法の一つとして活用されています。そのワクチンはオウシマダニの中腸タンパク質 Bm86 をベースとしたものであり、Bm86 ホモログがフタトゲチマダニを含むいくつかのマダニ種で同定されています。しかし、Bm86 ベースのワクチンの有効性はマダニ種や地域によって異なることが知られており、より安定した効果を発揮する抗原の候補や組み合わせを特定することが、新規抗マダニワクチン開発において重要視されています。本研究では、Bm86 に構造的に類似するタンパク質である ATAQ に着目し、オウシマダニ ATAQ のホモログをフタトゲチマダニより単離・同定しました（HIATAQ）。遺伝子およびアミノ酸配列解析により、HIATAQ は 654 アミノ酸からなるタンパク質で、特徴的な配列「YFNATAQRRCYH」と複数の Epidermal Growth Factor (EGF) 様ドメインを有することがわかりました。遺伝子発現解析により、中腸とマルピーギ管における HIATAQ の発現は吸血中に増大することが判明しました。そこで、HIATAQ の機能を推測するため、RNA 干渉法による遺伝子発現抑制を行いました。対照群と HIATAQ 遺伝子発現抑制群間には表現型の違いは見られませんでした。次に、組換え HIATAQ をウサギ（日本白色種）に免疫し、抗体価上昇を確認後、フタトゲチマダニ（単為生殖系；雌）を吸血させ、ワクチン効果を検証しました。その結果、対照群に比べ、ワクチン群では吸血期間と卵期間（孵化に至るまでの期間）の有意な延長が認められました。今回の研究により、ATAQ はワクチン候補分子の一つになることが示されましたが、抗原となる組換え HIATAQ の作製法や他抗原との組み合わせによるワクチン効果検証が今後の課題です（論文リスト 1）。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議委員
- ・ 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

1. Guest editor of special issue "Tick biology and microorganism interaction: Understanding the groundwork of pathogen transmission mechanisms". *Microorganisms* (MDPI).

6. 2022 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, Souichirou Naomasa, Bumduuren Tuvshintulga, Nariko Sato, Kiyoshi Okado, Weiqing Zheng, Seung-Hun Lee, Juan Mosqueda, Hiroshi Suzuki, Xuenan Xuan, Rika Umemiya-Shirafuji*. Identification and Characterization of *Rhipicephalus microplus* ATAQ Homolog from *Haemaphysalis longicornis* Ticks and Its Immunogenic Potential as an Anti-Tick Vaccine Candidate Molecule. **Microorganisms**. 2023 Mar; 11(4): 822. PMID: 37110244
2. Emmanuel Pacia Hernandez, Kei Shimazaki, Hiroko Niihara, Rika Umemiya-Shirafuji, Kozo Fujisaki, Tetsuya Tanaka. Localization of secreted ferritin (FER2) in the embryos of the tick *Haemaphysalis longicornis*. **Parasites & Vectors**. 2023 Jan; 16(1): 42. PMID: 36717957
3. Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph Byaruhanga, Benedicto Byamukama, Maria Tumwebaze, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki. Molecular characterization of octopamine/tyramine receptor gene of amitraz-resistant *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks from Uganda. **Microorganisms**. 2022 Nov; 10(12): 2384. PMID: 36557637
4. Nanang R Ariefta, Aiko Kume, Yoshifumi Nishikawa, Tomoyo Taniguchi, Rika Umemiya-Shirafuji, Shunji Kasai, Hiroshi Suzuki. Effect of α -tocopheryloxy acetic acid on the infection of mice with *Plasmodium berghei* ANKA *in vivo* and humans with *P. falciparum in vitro*. **Acta Parasitologica**. 2022 Dec;67(4):1514-1520. PMID: 35951222
5. Maki Kuniyori, Nariko Sato, Naoaki Yokoyama, Shin-Ichiro Kawazu, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki, Kozo Fujisaki, Rika Umemiya-Shirafuji*. Vitellogenin-2 accumulation in the fat body and hemolymph of *Babesia*-infected *Haemaphysalis longicornis* ticks. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Jun; 12: 908142. PMID: 35800383
6. Shengwei Ji, Onur Ceylan, Zhuowei Ma, Eloiza May Galon, Iqra Zafar, Hang Li, Yae Hasegawa, Mutlu Sevinc, Tatsunori Masatani, Aiko Iguchi, Osamu Kawase, Rika Umemiya-Shirafuji, Masahito Asada, Ferda Sevinc, Xuenan Xuan. Protozoan and rickettsial pathogens in ticks collected from infested cattle from Turkey. **Pathogens**. 2022 Apr; 11(5): 500. PMID: 35631021

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講演、帯広の森 H9H10 年植樹区および屋敷林跡地、2022 年 6 月 25 日
2. 原虫病研究センター施設見学および寄生虫の標本展示、令和 4 年度度帯広畜産大学オープンキャンパス、帯広畜産大学・原虫病研究センターPK ホール、2022 年 7 月 30 日～7 月 31 日

8. 招待講演等

1. 白藤（梅宮）梨可. 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. 第 91 回日本寄生虫学会大会・シンポジウム 1（マダニ研究展開のための基盤構築に向けて）（とかちプラザ, 北海道帯広市）. 2022 年 5 月 28 日.（招待講演⑩、企画）
2. Rika Umemiya-Shirafuji. Establishment of the Tick Biobank for the application to vector biology research and the development of tick control methods. 15th International Congress of Parasitology (ICOPA2022) (Bella Center, Copenhagen, Denmark). 2022. August 21-26. (Oral presentation #1499 in Video on-demand - Symposium 03: New tools for prevention and control of ticks and tick-borne pathogens).（招待講演⑪）

9. 獲得研究費

1. 令和 4 年度 基盤研究 (B)（文部科学省）、原虫感染マダニにおける臓器特異的ピテロジェニンの機能解明 (22H02512)、代表、令和 4 年度～令和 6 年度
2. 令和 4 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、マダニ卵形成に貢献する共生微生物の探索、2022年4月1日～2023年3月31日、2022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、組換えアクアポリンを用いた抗マダニワクチンの構築、2022年4月1日～2023年3月31日、2022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、2022年4月1日～2023年3月31日、2022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、国際共同として行っています。

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. 2022 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及び原虫病の治療・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行っています。今年度は、外国産大型ピロプラズマ原虫（バベシア・ビゲミナ）によるウシのバベシア症に対するワクチン開発の基盤となる標的分子の探索を、ケレタロ自治大学（メキシコ合衆国）との共同研究で行いました。Spherical Body Protein 4 及び GP-45 の B 細胞（抗原）エピトープについて解析を行い、前者に対する免疫血清が、国産の大型ピロプラズマ原虫（バベシア・オバタ）

に対する交差免疫を示すこと、後者がバベシア・ビゲミナの野外分離株間で保存されていることを見出しました。一連の研究成績を、ウシバベシア症に対するワクチン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（原著論文リスト 1 及び 7）一方、バベシア・オバタでは、昨年度に引き続き、これまで詳細な研究が行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、独自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試料を調製して、RNA シーケンス (RNA-seq) を行い、マダニ体内での発育ステージで発現が亢進する遺伝子群を同定いたしました。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、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最新の遺伝子改変技術について概説する論文を、専門誌に公表いたしました（総説論文リスト 1）。

- ・ フィリピンでは国内 28 州に日本住血吸虫症の流行地があり、住民 500 万人が感染の危険に曝されています。私達の研究室では、国内の各流行地に分布する寄生虫の DNA を用いて分子疫学調査を行い、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 (elimination) 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) をはじめとする数種の組換え体抗原の性能を評価いたしました。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。また、メコン住血吸虫のドラフトゲノムを取得して、この寄生虫種の TPx-1 の組換え体抗原を作製いたしました。同組み組換え体抗原を ELISA に応用してその性能を評価したところ、高感度・高特異性を示す、良好な成績が得られましたが、タイ肝吸虫症の患者血清との交差反応も認められ、今後解決が必要な問題として提示されました。一連の研究成績を、アジア型住血吸虫症の診断法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（原著論文リスト 2 及び 3）。また、日本住血吸虫の酵素抗原二種類の組換え体についても ELISA 抗原としての性能を評価して、専門誌に公表いたしました（原著論文リスト 6）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。また、アジア型住血吸虫症の対策に必須となる情報を得るための手法として、寄生虫の集団構造解析に使用するシングルゲノム DNA の調整を目的としたミラシジウムふ化法 (MHT) の改良を行いました。その結果、既存の MHT プロトコールを 96 穴プラスチック ELISA プレートでの簡易法に改良し、また、通常は蛍光灯下で行う MHT を日光下で行っても効率的にミラシジウムのふ化が誘導できることを初めて明らかにいたしました。この手法で採取したミラシジウムから調整したングルゲノム DNA を鋳型にした PCR ではマイクロサテライトマーカーが増幅され、MHT の改良法が寄生

虫の集団構造解析の研究にも十分応用可能であることが確認できました。一連の研究成績を、アジア型住血吸虫症の elimination に向けた対策手法開発の基礎知見として、専門誌に公表いたしました(原著論文リスト 5)。MHT 改良法をアジア型住血吸虫症の対策に導入することで、流行地での寄生虫の集団構造解析が可能になります。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

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

② 主催した学会、研究会等

- ・ 第 91 回日本寄生虫学会大会 (令和 4 年 5 月 28-29 日、帯広市とかちプラザにてハイブリッド開催)

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. 2022 年度研究成果発表等 (原著論文、総説・著書)

原著論文 (* 責任著者)

1. Juan Mosqueda, Diego Josimar Hernandez-Silva, Massaro W Ueti, Adolfo Cruz-Reséndiz, Ricardo Marquez-Cervantez, Uriel Mauricio Valdez-Espinoza, Minh-Anh Dang-Trinh, Thu-Thuy Nguyen, Minerva Camacho-Nuez, Miguel Angel Mercado-Uriostegui, Gabriela Aguilar-Tipacamú, Juan Alberto Ramos-Aragon, Ruben Hernandez-Ortiz, **Shin-Ichiro Kawazu**, Ikuo Igarashi. Spherical Body Protein 4 from *Babesia bigemina*: A Novel Gene That Contains Conserved B-Cell Epitopes and Induces Cross-Reactive Neutralizing Antibodies in *Babesia ovata*. **Pathogens**. 2023 Mar; 12(3): 495. PMID: 36986418
2. Jose Ma M Angeles, Atcharaphan Wanlop, Minh-Anh Dang-Trinh, Masashi Kirinoki, **Shin-Ichiro Kawazu**, Aya Yajima. Evaluation of Crude and Recombinant Antigens of *Schistosoma japonicum* for the Detection of *Schistosoma mekongi* Human Infection. **Diagnostics (Basel)**. 2023 Jan; 13(2): 184. PMID: 36672994
3. Atcharaphan Wanlop, Jose Ma M Angeles, Adrian Miki C Macalanda, Masashi Kirinoki, Yuma Ohari, Aya Yajima, Junya Yamagishi, Kevin Austin L Ona, **Shin-Ichiro Kawazu**.

- Cloning, Expression and Evaluation of Thioredoxin Peroxidase-1 Antigen for the Serological Diagnosis of *Schistosoma mekongi* Human Infection. **Diagnostics (Basel)**. 2022 Dec; 12(12): 3077. PMID: 36553084
4. Maki Kuniyori, Nariko Sato, Naoaki Yokoyama, **Shin-Ichiro Kawazu**, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki, Kozo Fujisaki, Rika Umemiya-Shirafuji. Vitellogenin-2 Accumulation in the Fat Body and Hemolymph of *Babesia*-Infected *Haemaphysalis longicornis* Ticks. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Jun; 12: 908142. PMID: 35800383
 5. Atcharaphan Wanlop, Minh-Anh Dang-Trinh, Masashi Kirinoki, Saki Suguta, Kaho Shinozaki, **Shin-Ichiro Kawazu**. A simple and efficient miracidium hatching technique for preparing a single-genome DNA sample of *Schistosoma japonicum*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2022 Aug; 84(8): 1108-1110. PMID: 35732429
 6. Jose Ma M Angeles, Yasuyuki Goto, Minh Anh Dang Trinh, Pilarita T Rivera, Elena A Villacorte, **Shin-Ichiro Kawazu**. Serological evaluation of the schistosome's secretory enzyme phytochelatin synthase and phosphoglycerate mutase for the detection of human *Schistosoma japonicum* infection. **Parasitology Research**. 2022 Aug; 121(8): 2445-2448. PMID: 35672537
 7. Miguel Angel Mercado-Uriostegui, Luis Alberto Castro-Sánchez, Gaber El-Saber Batiha, Uriel Mauricio Valdez-Espinoza, Alfonso Falcón-Neri, Juan Alberto Ramos-Aragon, Ruben Hernández-Ortiz, **Shin-Ichiro Kawazu**, Ikuo Igarashi, Juan Mosqueda. The GP-45 Protein, a Highly Variable Antigen from *Babesia bigemina*, Contains Conserved B-Cell Epitopes in Geographically Distant Isolates. **Pathogens**. 2022 May; 11(5): 591. PMID: 35631112

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.
2. Hassan Hakimi, Junya Yamagishi, **Shin-Ichiro Kawazu**, Masahito Asada. Advances in understanding red blood cell modifications by *Babesia*. **Plos Pathogens**. 2022 Sep; 18(9): e1010770. PMID: 36107982

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. ICD 講習会開催（令和4年5月29日、帯広市とかちプラザにて開催）

8. 招待講演等

1. 2023 年日米医学合同 EID 会議 寄生虫疾患部会パネル会議：シンポジウム、フィリピン マニラ市、2023 年 3 月 10 日

9. 獲得研究費

1. 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
2. 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

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. Memorandum Of Understanding (MOU) for academic cooperation and exchange between College of Public Health, University of the Philippines Manila, Philippines and National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan、2023 年 3 月～2028 年 2 月（2023 年 3 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、2023 年 2 月～2028 年 1 月（2023 年 2 月に延長）、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～2023 年 7 月、学術交流協定、フィリピンカラバオセンター
4. Memorandum Of Understanding, hereinafter referred to as “MOU” made and entered into by the College Of Natural Sciences, Autonomous University Of Queretaro, United

Mexican States and the National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan、2022年9月～2025年8月、学術交流協定、ケレタロ自治大学・自然科学部

5. 荒木 球沙：国立感染症研究所寄生動物部、ヒストン制御機構に着目した新規抗マラリア化合物のスクリーニングと原虫オルガネラの三次元構造解析、2022年4月1日～2023年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究（2022-共同-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（WOAH）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 WOAH 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. 2022 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）の病原体です。主に血流中に寄生し吸血昆虫を介して伝播される他種トリパノソーマとは異なり、*T. equiperdum* は血流中に現れることはまれで生殖器に寄生するとされ、交尾によって伝播されます。媾疫は WOAH の定める国際重要家畜疾患であるにもかかわらず、*T. equiperdum* の寄生動態、とくに感染源となる生殖器への組織移行性については未解明でした。本研究では *T. equiperdum* 感染オスマウスモデルを構築し、雄性生殖器における原虫の詳細な寄生部位を特定し、*T. equiperdum* の精液への移行性について検討しました。その結果、感染オスマウスの生殖器では精子肉芽腫を伴う精巣上体炎が観察され、間質に原虫の寄生が認められました。また精巣上体管上皮細胞のアポトーシスによる血液精巣上体関門の崩壊、および精巣上体管内に侵入した *T. equiperdum* が認められました。また、精巣上体間質には多量の炎症細胞と、細胞にアポトーシスを誘導するサイトカイン *TNF- α* の存在も確認されました。本研究により、*T. equiperdum* のオスマウス生殖器における寄生部位を特定するとともに、原虫の精液への移行機序の一端が明らかとなりました。（論文リスト3）（帯広畜産大学基礎獣医学研究部門との共同研究）。

- ・ 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。昨年度我々はパラグアイにおける馬トリパノソーマ感染状況を明らかにしました (Suganuma *et al.*, 2021)。本年はパラグアイの馬におけるトリパノソーマ感染リスク因子を探索しました。その結果、アブなどの媒介吸血昆虫が多く発生する夏季・雨季に感染リスクが有意に増大することが明らかとなりました。本研究結果から動物トリパノソーマ症感染予防を行うために媒介昆虫防除の重要性が示されました (論文リスト 4) (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)。

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. 2022 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. Mo Zhou, Lianfeng Li, Keisuke Suganuma. Editorial: Epidemic status and prevention of swine infectious diseases. **Frontiers in Veterinary Science**. 2023 Mar; 10: 1169644. PMID: 36950539
2. Stipan Nurbyek, Buyanmandakh Buyankhishig, Keisuke Suganuma, Yoshinobu Ishikawa, Mika Kutsuma, Marie Abe, Kenroh Sasaki, Bekh-Ochir Davaapurev, Javzan Batkhuu, Toshihiro Murata. Phytochemical investigation of *Scutellaria scordiifolia* and its trypanocidal activity. **Phytochemistry**. 2023 Feb; 209: 113615. PMID: 36828100
3. Yusuke Tanaka, Keisuke Suganuma, Kenichi Watanabe, Yoshiyasu Kobayashi. Epididymitis in mice experimentally infected with *Trypanosoma equiperdum*: a histopathological and immunohistochemical study. **Journal of Comparative Pathology**. 2023 Feb; 201: 1-9. PMID: 36642054
4. Ai Yamazaki, Keisuke Suganuma, Mitsunori Kayano, Tomás J Acosta, Tomoko Saitoh, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Antonio Rodríguez Sanchez, Noboru Inoue. Risk

factors for equine trypanosomosis and hematological analysis of horses in Paraguay.

Acta Tropica. 2022 Sep; 233: 106543. PMID: 35643185

5. Mahmoud Kandeel, Keisuke Suganuma. The broad-spectrum antitrypanosomal inhibitory efficiency of the antimetabolite/anticancer drug raltitrexed. **Processes**. 10(11): 2158.

総説

1. Moitshepi Plaatjie, ThankGod Onyiche, Lesetja Legoabe, Tsepo Ramatla, Nthatsi Nyembe, Keisuke Suganuma, Oriel Thekiso. Medicinal plants as potential therapeutic agents for trypanosomosis: a systematic review. **Advances in Traditional Medicine**. 2022

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. 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
2. 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)、牧場及び牧場周囲の環境要因が吸血性アブ類の発生・飛来消長に与える影響の解析、代表、2022 年度
3. 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
4. 2022 年度 独立行政法人日本学術振興会・南アフリカとの共同研 (NRF) (日本学術振興会)、ニトロフランおよびその関連化合物に着目したトリパノソーマ症新規経口治療薬の開発 (JPJSBP120226501)、代表、2022 年度～2023 年度
5. 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
6. 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

1. 受賞者：山崎 藍（畜産学専攻博士前期課程1年）

受賞名：第165回日本獣医学会学術集会優秀発表賞（寄生虫分科会）

受賞テーマ：パラグアイで飼養されている馬のトリパノソーマ感染に関するリスク因子解析

受賞年：2022年10月16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. 中尾 洋一：早稲田大学理工学術院先進理工学研究科、抗トリパノソーマ活性を持つ海洋生物由来リード化合物の探索と作用機序解析、2022年4月1日～2023年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究（2022-共同-10）
2. Davaasuren Batdorj: Institute of Veterinary Medicine, Mongolian Life Science University, Investigation of parasitic strategy, especially tissue parasitism of *T. equiperum* on horse (2022-Joint-21)
3. Memorandum Of Understanding (MOU) between North-West University, South Africa acting through with Unit for Environmental Sciences and Management, and Center of Excellence for Pharmaceutical Sciences and National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan、学術交流協定、南アフリカノースウェスト大学・Unit for Environmental Sciences and Management, and Center of Excellence for Pharmaceutical Sciences

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。

馬に原虫性脊髄脳炎を引き起こすザルコシスティス原虫 (*Sarcocystis neurona*) について、培養系の確立とその系を用いた基礎研究を行っています。

エンセファリトゾーン症は、*Encephalitozoon cuniculi* という微胞子虫による感染症であり、主としてウサギに対して神経症状や眼症状、腎臓疾患などを引き起こす可能性があります。この感染症に対する薬剤の有効性を検証する目的で、培養系での増殖率の測定法の確立を目指しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ トキソプラズマ病原性因子の同定と機能解析
- ・ ザルコシスティス・ニューロナ原虫の培養系の確立
- ・ エンセファリトゾーンの増殖率測定法の開発

3. 2022 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)。

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. 2022 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)

該当なし

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

◆-----准教授 福本晋也
(Shinya Fukumoto)

1. 研究テーマの概要

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

2. 主な研究テーマ

- ・ 媒介蚊における病原体感染分子機構
- ・ タイ王国における節足動物媒介性寄生虫感染症の疫学調査
- ・ エゾシカ保有病原体叢の網羅的解析

3. 2022 年度研究の総括

- ・ 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4年度においては、その中でもロイコチトゾーンと腸管出血性大腸菌などについて調査を行いました。ロイコチトゾーンについては千葉大学との共同研究でドバトやキジバトを対象として新たなリンケージを検出する方法を確立したうえでその疫学情報を明らかにしました。また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 O26 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 3,4）。
- ・ 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4年度についてはその一貫として免疫不全マウスを用いたマイクロフィラリア血症モデルの確立、フィラリアの媒介能に関するゲノム領域の解析等を実験室系統のヤブカおよびフィールド由来のヤブカを用いて行いました。またフィラリア汚染地域でのヒトスジシマカの採取とラボコロニー化を行いました。

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
- ・

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. 2022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. Yuki Ishiguro, Motoki Sasaki, Emi Yamaguchi, Kotaro Matsumoto, **Shinya Fukumoto**, Hidefumi Furuoka, Kunitoshi Imai, Nobuo Kitamura. Seasonal changes of the prostate gland in the raccoon (*Procyon lotor*) inhabiting Hokkaido, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2023 Feb 10; 85(2): 214-225. PMID: 36596557
2. Yasunaga Yoshikawa, Shunta Kimura, Akira Soga, Makoto Sugiyama, Aki Ueno, Hiroki Kondo, Zida Zhu, Kazuhiko Ochiai, Kazuhiko Nakayama, Jun Hakozaki, Kodai Kusakisako, Asako Haraguchi, Taisuke Kitano, Koichi Orino, **Shinya Fukumoto**, Hiromi Ikadai. *Plasmodium berghei* Brca2 is required for normal development and differentiation in mice and mosquitoes. **Parasites & Vectors**. 2022 Jul; 15(1): 244. PMID: 35804459
3. 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 Jun; 84(6): 770-776. PMID: 35387920
4. Yui Honjo, **Shinya Fukumoto**, Hirokazu Sakamoto, Kenji Hikosaka. New PCR primers targeting the cytochrome b gene reveal diversity of *Leucocytozoon* lineages in an

individual host. Parasitology Research. 2022 Nov; 121(11): 3313-3320. PMID: 3612563

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4年度 基盤研究(B) (一般) (文部科学省) 犬糸状虫を媒介しない蚊の創出に向けた病原体媒介機構の分子遺伝学的解析(22H02510)、代表、令和4年度～令和6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
3. 令和4年度 挑戦的研究(萌芽) 病原体を媒介しない蚊バイオリソース構築による犬糸状虫症制御基盤の創出(22K19235)、代表、令和4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・東京農工大学)
3. フィラリアの媒介メカニズムに関する研究(藤田医科大学)

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の原因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法の開発
- ・ バベシア症に対する組換えワクチンの開発
- ・ 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. 2022 年度研究の総括

- ・ バベシア症は、動物や人に貧血など重症を引き起こす感染症であります。今日まで有効なワクチンがなく、最も一般的に使用されている制御戦略として化学療法が挙げられます。しかし、現在使用されている抗バベシア薬には副作用や薬剤耐性の問題が懸念されています。したがって、より効果的な新規治療薬開発が急務となっています。そこで、マラリア臨床試験中の化合物である MMV390048 (MMV) の *in vitro* 培養の *B. gibsoni*、および *in vivo* での *B. rodhaini* と *B. microti* に対する阻害効果を評価しました。その結果、いずれの虫体の増殖も顕著に抑制し、その標的遺伝子はホスファチジルイノシトール 4 キナーゼ (PI4K) であることを明らかにしました。また、MMV が現行のバベシア症治療薬であるアトバコン (ATO) の耐性株にも有効であることを実証した (論文リスト 5、12)。
- ・ マウスのバベシア症モデルを用いてバベシア感染に対する宿主防御免疫機構の解明を試みしました。マウスに *Babesia microti* (弱毒株、人バベシア症の原因病原体) を初感染させた後に、*Babesia rodhaini* (致死性強毒株) で再感染させると、完全な感染防御免疫が成立していることを証明しました。この感染防御免疫は初感染後 4 日後で成立することと、主要免疫担当細胞はマクロファージであることを明らかにした (論文リスト 14)。

- ・タンザニアとトルコにおける家畜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7、15、総説1）。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・日本寄生虫学会理事
- ・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

- ・国際シンポジウム「マダニとマダニ媒介感染症の制御戦略」（日本学術振興会拠点形成事業-アジア・アフリカ学術基盤形成型）（2022年10月5日、当センター）

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2022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, Souichirou Naomasa, Bumduuren Tuvshintulga, Nariko Sato, Kiyoshi Okado, Weiqing Zheng, Seung-Hun Lee, Juan Mosqueda, Hiroshi Suzuki, **Xuenan Xuan**, Rika Umemiya-Shirafuji. Identification and characterization of *Rhipicephalus microplus* ATAQ homolog from *Haemaphysalis longicornis* ticks and its immunogenic potential as an anti-tick vaccine candidate Molecule. **Microorganisms**. 2023 Mar; 11(4): 822. PMID: 37110244
2. Hang Li, Shengwei Ji, Eloiza May Galon, Iqra Zafar, Zhuowei Ma, Thom Do, Moaz M Amer, Yihong Ma, Junya Yamagishi, Mingming Liu, **Xuenan Xuan***. Identification of three members of the multidomain adhesion CCp family in *Babesia gibsoni*. **Acta Tropica**. 2023 Mar; 241: 106890. PMID: 36907290
3. Hejia Ma, Eloiza May Galon, Yanjun Lao, Ming Kang, **Xuenan Xuan**, Jixu Li, Yali Sun. De novo assembled transcriptomics assisted label-free quantitative proteomics analysis reveals sex-specific proteins in the intestinal tissue of *Haemaphysalis qinghaiensis*. **Infection, Genetics and Evolution**. 2023 Feb; 109: 105409. PMID: 36773671
4. Patrick Vudriko, Rika Umemiya-Shirafuji, Dickson Stuart Tayebwa, Joseph

- Byaruhanga, Benedicto Byamukama, Maria Tumwebaze, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki. Molecular characterization of octopamine/tyramine receptor gene of amitraz-resistant *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks from Uganda. **Microorganisms**. 2022 Nov; 10(12): 2384. PMID: 36557637
5. Shengwei Ji, Eloiza May Galon, Moaz M Amer, Iqra Zafar, Masashi Yanagawa, Masahito Asada, Jinlin Zhou, Mingming Liu, Xuenan Xuan*. Phosphatidylinositol 4-kinase is a viable target for the radical cure of *Babesia microti* infection in immunocompromised hosts. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Nov; 12: 1048962. PMID: 36452305
 6. Mohammad Hazzaz Bin Kabir, Frances Cagayat Recuenco, Nur Khatijah Mohd Zin , Nina Watanabe, Yasuhiro Fukuda, Hironori Bando, Kenichi Watanabe, Hiroki Bochimoto, Xuenan Xuan, Kentaro Kato. Identification of potent anti-*Cryptosporidium* new drug leads by screening traditional Chinese medicines. **Plos Neglected Tropical Diseases**. 2022 Nov; 16(11): e0010947. PMID: 36441814
 7. Aaron Edmond Ringo, Hezron Emanuel Nonga, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Mohamed Abdo Rizk, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Uday Kumar Mohanta, Zhuowei Ma, Boniface Chikufenji, Thanh Thom Do, Xuenan Xuan*. Molecular investigation of tick-borne haemoparasites isolated from indigenous zebu cattle in the Tanga region, Tanzania. **Animals (Basel)**. 2022 Nov; 12(22): 3171. PMID: 36428398
 8. Sanghyun Lee, Yeonchul Hong, Dong-Il Chung, Hyung-Kwan Jang, Youn-Kyoung Goo, Xuenan Xuan*. Evolutionary analysis of *Babesia vulpes* and *Babesia microti*-like parasites. **Parasites & Vectors**. 2022 Nov; 15(1): 404. PMID: 36329533
 9. Eloiza May Galon, Rochelle Haidee Ybañez, Adrian Miki Macalanda, Giemelene Rose Estabillo, Margaret Therese Rose Montano, Marielle Danise Veedor, Anatolio Garvida, Ralph Joselle Fabon, Mary Ruth Callanta, Kim Joseph Labutong, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Adrian Ybañez, Xuenan Xuan*. First molecular identification of *Babesia*, *Theileria*, and *Anaplasma* in goats from the Philippines. **Pathogens**. 2022 Sep; 11(10): 1109. PMID: 36297166
 10. Jiaying Guo, Furong Yang, Lingna Wang, Xuenan Xuan, Junlong Zhao, Lan He. A novel promising diagnostic candidate selected by screening the transcriptome of *Babesia gibsoni* (Wuhan isolate) asexual stages in infected beagles. **Parasites & Vectors**. 2022 Oct; 15(1): 362. PMID: 36217160
 11. Clara-Lee van Wyk, Khethiwe Mtshali, Moeti O Taioe, Stallone Terera, Deon Bakkes, Tsepo Ramatla, Xuenan Xuan*, Oriel Thekiso. Detection of ticks and tick-borne pathogens of urban stray dogs in South Africa. **Pathogens**. 2022 Jul; 11(8): 862. PMID: 36014983
 12. Shengwei Ji, Eloiza May Galon, Mohamed Abdo Rizk, Yunpeng Yi, Iqra Zafar, Hang Li, Zhuowei Ma, Aiko Iguchi, Masahito Asada, Mingming Liu, Xuenan Xuan*. Efficacy of

- the antimalarial MMV390048 against *Babesia* infection reveals phosphatidylinositol 4-kinase as a druggable target for babesiosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2022 Sep; 66(9): e0057422. PMID: 35924942
13. Maki Kuniyori, Nariko Sato, Naoaki Yokoyama, Shin-Ichiro Kawazu, Xuenan Xuan, Hiroshi Suzuki, Kozo Fujisaki, Rika Umemiya-Shirafuji. Vitellogenin-2 accumulation in the fat body and hemolymph of *Babesia*-infected *Haemaphysalis longicornis* ticks. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Jun; 12: 908142. PMID: 35800383
 14. Iqra Zafar, Eloiza May Galon, Daisuke Kondoh, Artemis Efstratiou, Jixu Li, Shengwei Ji, Mingming Liu, Yongchang Li, Yae Hasegawa, Jinlin Zhou, Xuenan Xuan*. The cross-species immunity during acute *Babesia* co-infection in mice. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 May; 12: 885985. PMID: 35719355
 15. Shengwei Ji, Onur Ceylan, Zhuowei Ma, Eloiza May Galon, Iqra Zafar, Hang Li, Yae Hasegawa, Mutlu Sevinc, Tatsunori Masatani, Aiko Iguchi, Osamu Kawase, Rika Umemiya-Shirafuji, Masahito Asada, Ferda Sevinc, Xuenan Xuan*. Protozoan and rickettsial pathogens in ticks collected from infested cattle from Turkey. **Pathogens**. 2022 Apr; 11(5): 500. PMID: 35631021

総説

1. Eloiza May Galon, Iqra Zafar, Shengwei Ji, Hang Li, Zhuowei Ma, Xuenan Xuan*. Molecular Reports of Ruminant *Babesia* in Southeast Asia. **Pathogens**. 2022 Aug; 11(8): 915. PMID: 36015035
2. Mingming Liu, Ikuo Igarashi I, Xuenan Xuan*. *Babesia gibsoni*. **Trends in Parasitology**. 2022 Sep; 38(9): 815. PMID: 35339362.

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 26 回ポーランド寄生虫学会、バベシア症とマラリアの共感染モデルの確立と交差防御免疫機構、2022 年 9 月 14 日、ポーランド・オールシュティン

9. 獲得研究費

1. 令和 4 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 5 年度

2. 令和 4 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
3. 令和 4 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 4 年度
4. 令和 4 年度 基盤研究（B）（一般）（文部科学省）、犬バベシア症における宿主防御免疫機構の解明と新型組換えワクチンの開発、代表、令和 4 年度～令和 6 年
5. 令和 4 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 4 年度～令和 5 年度
6. 令和 4 年度 特別研究員奨励費（文部科学省）、犬バベシア症に対する分子標的治療法の開発、代表、令和 4 年度～令和 5 年度
7. 令和 4 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

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、2022 年 4 月 1 日～2023 年 3 月 31 日、2022 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、2022 年 4 月 1 日～2023 年 3 月 31 日、2022 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～2023 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～2024 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～2024 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の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2024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の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2024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の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2024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の制圧に向けた国際共同研究拠点の構築、2020年4月1日～2024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

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. 2022 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、バベシア原虫による宿主赤血球の改変に焦点を当て、研究を進めています。今年度は昨年度に引き続き、私たちの発見した *B. bovis* DnaK, *B. ovata* MFS, VEAP について解析を進めると共に、感染赤血球側に局在するバベシア原虫分子として知られていた SBP(スフェリカルボディープロテイン)についても機能解析を開始しました。*B. ovata* MFS については機能解析を進め、プラストサイジン S の取り込みに関与することを示唆する結果を得ました(佐藤ら、第 92 回日本寄生虫学会大会)。また、*B. bovis* DnaK、*B. ovata* VEAP については局在解析を長崎大学の坂口美亜子博士と進めました。さらに、テキサス A&M 大学のハキミ・ハッサン博士とバベシア原虫による赤血球改変分子に関する総説を執筆しました(総説リスト 1)。
- ・ 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。今年度はタイ・チュラロンコン大学の Morakot Kaewthamasorn 博士と共にベクターの調査を進め、スイギュウのマラリア原虫、ヤギのマラリア原虫とも *Anopheles* 属の蚊がベクターである可能性が高いことを明らかにしました(論文リスト 2,3)。また、タイより特別研究学生を受け入れて、家畜の住血原虫検出法に関する共同研究を行いました(論文リスト 1)。

- ・その他にも原虫病研究センター共同研究において、チェコ・CAS から研究者を受け入れ、新たなバベシア原虫遺伝子組換え法の開発に取り組みました。

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

- ・ 第 91 回日本寄生虫学会大会 大会事務局. 2022 年 5 月. 帯広市
- ・ 第 29 回分子寄生虫学ワークショップ/第 19 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 世話人. 2022 年 8 月. 長崎市

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2022 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. Apinya Arnuphapprasert, Yudhi Ratna Nugraheni, Aung Aung, **Masahito Asada**, Morakot Kaewthamasorn. Detection of *Babesia bovis* using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) with improved thermostability, sensitivity and alternative visualization methods. **Scientific Reports**. 2023 Feb; 13(1): 1838. PMID: 36725982
2. Anh Hoang Lan Nguyen, Sittiporn Pattaradilokrat, Winai Kaewlamun, Osamu Kaneko, **Masahito Asada***, Morakot Kaewthamasorn*. Myzomyia and Pyretophorus series of *Anopheles* mosquitoes acting as probable vectors of the goat malaria parasite *Plasmodium caprae* in Thailand. **Scientific Reports**. 2023 Jan; 13(1): 145. PMID: 36599869
3. Anh Hoang Lan Nguyen, Yudhi Ratna Nugraheni, Trang Thuy Nguyen, Aung Aung, Duriyang Narapakdeesakul, Winai Kaewlamun, **Masahito Asada***, Morakot Kaewthamasorn*. Molecular characterization of anopheline mosquitoes from the goat malaria-endemic areas of Thailand. **Medical and Veterinary Entomology**. 2023 Jan. PMID: 36598082
4. Shengwei Ji, Eloiza May Galon, Moaz M Amer, Iqra Zafar, Masashi Yanagawa, **Masahito Asada**, Jinlin Zhou, Mingming Liu, Xuenan Xuan. Phosphatidylinositol 4-

- kinase is a viable target for the radical cure of *Babesia microti* infection in immunocompromised hosts. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 2022 Nov; 12: 1048962. PMID: 36452305
5. Shengwei Ji, Eloiza May Galon, Mohamed Abdo Rizk, Yunpeng Yi, Iqra Zafar, Hang Li, Zhuowei Ma, Aiko Iguchi, **Masahito Asada**, Mingming Liu, Xuenan Xuan. Efficacy of the Antimalarial MMV390048 against *Babesia* Infection Reveals Phosphatidylinositol 4-Kinase as a Druggable Target for Babesiosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2022 Sep; 66(9): e0057422. PMID: 35924942
 6. Shengwei Ji, Onur Ceylan, Zhuowei Ma, Eloiza May Galon, Iqra Zafar, Hang Li, Yae Hasegawa, Mutlu Sevinc, Tatsunori Masatani, Aiko Iguchi, Osamu Kawase, Rika Umemiya-Shirafuji, **Masahito Asada**, Ferda Sevinc, Xuenan Xuan. Protozoan and Rickettsial Pathogens in Ticks Collected from Infested Cattle from Turkey. **Pathogens**. 2022 Apr; 11(5): 500. PMID: 35631021
 7. Yudhi Ratna Nugraheni, Apinya Arnuphapprasert, Trang Thuy Nguyen, Duriyang Narapakdeesakul, Hoang Lan Anh Nguyen, Juthathip Poofery, Osamu Kaneko, **Masahito Asada**, Morakot Kaewthamasorn. Myzorhynchus series of *Anopheles* mosquitoes as potential vectors of *Plasmodium bubalis* in Thailand. **Scientific Reports**. 2022 Apr; 12(1): 6497. PMID: 35444253

総説

1. Hassan Hakimi, Junya Yamagishi, Shin-Ichiro Kawazu, **Masahito Asada***. Advances in understanding red blood cell modifications by *Babesia*. **Plos Pathogens**. 2022 Sep; 18(9): e1010770. PMID: 36107982

著書

該当なし

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 2022 年 4 月

8. 招待講演等

1. 動物やヒトの原虫病とその対策に向けた研究開発について. マーシャル・バイオリソース・ジャパン株式会社 第 29 回 AH (Animal Health) セミナー. 2022 年 9 月 16 日(オンライン講演)
2. *Babesia*. Workshop Gene editing & regulation in protozoan parasites & their vectors, University of Glasgow, UK. 2022 年 10 月 27 日 (オンライン講演)

9. 獲得研究費

1. 令和4年度 基盤研究(C) (一般研究) (文部科学省)、脳性バベシア症に繋がるバベシア・ボビスによる感染赤血球改変機構の解明(22K05982)、代表、令和4年度～令和7年度
2. 令和4年度 基盤研究(B) (一般研究) (文部科学省)、犬バベシア症における宿主防御免疫機構の解明と新型組換えワクチンの開発(22H02509)、分担、令和4年度～令和7年度
3. 令和4年度 基盤研究(B) (一般研究) (文部科学省)、牛小型ピロプラズマ病を引き起こす牛タイレリアの生体内増殖メカニズムの解明(22H02511)、分担、令和4年度～令和7年度
4. 令和4年度 基盤研究(B) (一般研究) (文部科学省)、原虫感染マダニにおける臓器特異的ピテロジェニンの機能解明(22H02512)、分担、令和4年度～令和7年度
5. 令和4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
6. 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
7. 長崎大学 熱帯医学研究拠点一般共同研究 新規バベシア原虫赤血球修飾分子 BbDnaK の局在・機能解析、代表、令和4年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究(共同研究契約締結分)

1. 宮崎 真也; 長崎大学熱帯医学研究所: 熱帯熱マラリア原虫ガメトサイトの細胞接着に必要な表層分子の同定、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究
2. 山岸 潤也; 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所: ヒト赤血球馴化 *Babesia microti* の作出と宿主域決定因子の解析、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究
3. Albert Mulenga; Texas A&M University: Establishment of split Cas9 for functional characterization of essential genes in *Babesia bovis*、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究

4. Daniel Sojka; Institute of Parasitology, Biology Centre CAS : Establishment of DiCre parasite lineages to study essential aspartyl peptidases of *Babesia*、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究
5. Morakot Kaewthamasorn; Chulalongkorn University : Identification of mosquitoes in goat farms and molecular screening of malaria parasite in mosquitoes、2022年4月1日～2023年3月31日、2022年度原虫病研究センター共同研究

1. 研究テーマの概要

哺乳動物体内に寄生するアフリカトリパノソーマの細胞表面は、強い抗原性を有する単一の糖蛋白質 (VSG) で覆われています。長年にわたり VSG を標的とするワクチンの開発が試みられてきましたが、同分子の易変異性が原因で今のところ成功していません。そこで我々はツェツェバエの体内に寄生するトリパノソーマの発育期、特にエピマスティゴート型虫体とメタサイクリック型虫体に着目し、これら 2 つの発育期におけるパラサイト vs ベクター相互作用メカニズムを分子レベルで解明することで、伝播阻止ワクチンやメタサイクロジェネシス阻害法の開発を目指しています。

安全な治療薬やワクチンが無いトリパノソーマ症の流行を阻止するには患者や患畜の早期診断と隔離（家畜の場合は殺処分）に頼るほかありません。加えてトリパノソーマ症は世界の貧しい国や地域で流行している感染症です。そこで我々は可能な限り簡便・安価で迅速かつ正確な診断法の開発と実用化を目指して研究を行っています。これまでに LAMP 法やイムノクロマトグラフィ法を応用した簡易迅速診断法を開発し、実用化することに成功しました。

Trypanozoon 亜属に分類される *Trypanosoma brucei*、*T. evansi*、*T. equiperdum* はそれぞれナガナ病、スーラ病、媾疫の病原体で、宿主特異性や好適寄生部位が異なります。伝播様式も異なっており、*T. brucei* はツェツェバエによる生物学的伝播、*T. evansi* はアブによる機械伝播、*T. equiperdum* は交尾で伝播します。近年、迅速な全ゲノム解読が可能となりこれらの原虫種のゲノム解読と相互比較が進んだ結果、これら 3 種はゲノムレベルでの差異が極めて少なく、別種に定義できないレベルであることが明らかとなりました。我々は「極めて近縁なこれら 3 種の宿主特異性、好適寄生部位、伝播様式が大きく異なっているのはなぜなのか？」という問いに解を見出すべく、フィールド調査で得られた知見や材料をもとに研究を進めています。

現在ヒトと動物のアフリカトリパノソーマ症には安全で完璧な治療・予防効果を示す薬がありません。一般的に新たな薬の実用化には莫大な費用と長い時間が必要なため、開発コストが回収できるマーケットが期待できない抗トリパノソーマ薬のような薬の開発は遅れているのが現状です。そこで我々はアカデミアからの地道な取り組みとして、トリパノソーマの培養系を駆使して既存の化合物ライブラリーのハイスループットスクリーニングを実施し、治療薬・予防薬候補化合物の探索を行っています。

アフリカトリパノソーマはツェツェバエやアブなどの吸血性双翅目昆虫によって媒介されます。特に世界中に分布しているアブは *T. evansi* や *T. vivax* のベクターとして重要ですが、アフリカ大陸固有のツェツェバエに比べるとベクターとしての研究が立ち遅れています。加えてアブに刺咬されることによる家畜の生産性への悪影響も定量化する手段に乏しい現状です。そこで我々は

アブの刺咬が家畜の生産性に及ぼす影響の定量化や、アブ対策の効果測定を行うため、アブ刺咬歴を免疫学的手法で定量化する方法を研究しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ トリパノソーマのパラサイトーベクター相互作用メカニズム解明
- ・ トリパノソーマ症の簡易迅速診断法開発
- ・ トリパノソーマの伝播様式、宿主特異性ならびに好適寄生部位の遷移機構解明
- ・ 抗トリパノソーマ薬候補化合物の探索
- ・ 吸血性双翅目昆虫による刺咬被害の定量化

3. 2022 年度研究の総括

- ・ 既存の化合物ライブラリーから約 1 万種類の異なる化合物を得てトリパノソーマに対する増殖阻害活性のスクリーニングを実施した結果、1%程度の化合物に強い増殖阻害活性があることを見出した。次年度はこれらの化合物のトリパノソーマ増殖阻害活性と動物細胞への影響を精査する予定。
- ・ 十勝南部の農場に設置したアブトラップを用いて約 2 万匹のアブを捕獲し、冷凍保存しておいたアブから優占種であるニッポンシロフアブを選択して唾液腺を摘出した。得られた唾液腺から粗抗原を調製し、次年度はアブトラップ設置農場で飼養されているウシの血液から血清を調製し、アブ唾液腺粗抗原を用いて抗アブ唾液腺抗体の検出を実施する予定。

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
- ・ 日本寄生虫学会評議員
- ・ 日本熱帯医学会

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 国際獣疫事務局（WOAH）リファレンスラボラトリー「スーラ病」専門家
- ・ WOAH-Non Tsetse Transmitted Animal Trypanosomoses Network Expert
- ・ 北海道科学技術審議会委員
- ・ 北海道立総合研究機構研究評価委員会常任委員

6. 2022 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. Ai Yamazaki, Keisuke Suganuma, Mitsunori Kayano, Tomás J Acosta*, Tomoko Saitoh, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Antonio Rodríguez Sanchez, **Noboru Inoue**. Risk factors for equine trypanosomosis and hematological analysis of horses in Paraguay. **Acta Tropica**. 2022 Sep; 233: 106543. PMID: 35643185
2. Keisuke Suganuma*, David D N'Da, Ken-Ichi Watanabe, Yusuke Tanaka, Ehab Mossaad, Afraa Elata, **Noboru Inoue**, Shin-Ichiro Kawazu. Therapeutic efficacy of orally administered nitrofurantoin against animal African trypanosomosis caused by *Trypanosoma congolense* Infection. **Pathogens**. 2022 Mar; 11: 331. PMID: 35335655
3. Keisuke Suganuma*, Mitsunori Kayano, Katsuya 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 Feb; 86: 102476. PMID: 34610467
4. 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 Jan; 27: 100664. PMID: 35012722

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. WOH 診断試料の提供「トリパノソーマ DNA」（令和 4 年度）：UAE および南アフリカに計 6 件
2. WOH 診断試料の提供「トリパノソーマ粗抗原」（令和 4 年度）：南アフリカに 1 件
3. WOH 診断に関するコンサルタント・情報提供「スーラ病」（令和 4 年度）：日本（動物検疫所ほか）、WOH アジア太平洋地域代表事務所、USA、インドネシア、中国へ計 10 件
4. WOH リファレンスラボラトリー「スーラ病」の活動報告書を WOH に提出（2022 年 3 月）
5. 基調講演「感染症の調査中に食した世界のごはん～食の安全・安心について感じたこと～」十勝消費者大会（中札内村）、2022 年 7 月 29 日

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

1. 令和5年度 基盤研究(B) (一般) (文部科学省) EMF 特異的ヘモグロビンレセプターから
紐解くトリパノソーマのベクター寄生戦略(23H02377)、代表、令和5年度~令和8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. 十勝毎日新聞社「勝毎電子版ジャーナル」(2022年3月22日) 研究・教育でSDGs推進
畜大のビジョンを井上昇副学長に聞く【ちくだい×SDGs(1)】
<https://kachimai.jp/article/index.php?no=202231520251>

13. 国内外との共同研究(共同研究契約締結分)

該当なし