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

発生工学的の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。そこで、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、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a-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。さらに、a-tocopheryloxy acid は、マラリア原虫感染に加え、トリパノソーマ感染に対しても効果的な抗原虫作用を有することを、in vivo および in vitro の実験系で証明しました。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。

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、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ています。

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、ラブラドール・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。以上のように、18MH 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ー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)が速いことを認めました。これらの成績は、非侵襲的な胚の性判別法の開発につながることが期待されます。

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. 2023 年度研究の総括

・ これまでに、マイトカンとしてしられているビタミン E 誘導体a-tocopheryloxy acetic acid (a-TEA) が、P. berghei ANKA および P. falciparum による感染、さらには Trypanosoma congolense 感染に対して、効果的な抗原虫作用を発揮することを示してきました。本年度は、 T. congolense 感染に対するa-TEA 作用機序の解析を行いました。T. congolense は、ウシを はじめとする家畜に動物アフリカトリパノソーマ症を引き起こす原虫であります。 動物アフリ カトリパノソーマ症は慢性的に進行し、しばしば致死的な経過を辿る消耗性の疾患で、サブサ ハラアフリカを中心に経済的損失が問題となっています。トリパノソーマ症に対する治療薬は 存在するものの、いずれも開発から数十年が経過しており、耐性原虫の出現が報告されている ことから新たな薬剤開発が求められているところです。 a-TEA は、がん細胞のミトコンドリア を刺激することで酸化ストレスを発生させアポトーシスを引き起こすことが報告されている 化合物ですが、すでに我々は、a-TEA の経口投与が T. congolense 感染マウスの生存率を上 昇させることを認めており、本年度は、その作用機序の解析を行いました。はじめに、*T.* congolense の in vitro 培養系を用いてα-TEA(0~25 μg/ml)の増殖抑制効果を解析するこ とによってa-TEAの原虫に対する直接作用の有無を検討しました。続いて、Annexin V (AV) 及び Propidium Iodide (PI) 染色によるアポトーシスの検出、JC-1 染色によるミトコンドリ ア膜電位の検出、2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCFH-DA)および mtSOX 染色によ る酸化ストレスの検出を通して抗原虫効果の作用機序を詳細に解析しました。T. congolense のa-TEA 存在下の培養によって、培養開始後36時間以降、対照群と比較してT. congolense の増殖が有意に抑制されました(p<0.05)。また、α-TEA 50 μg/ml 群では 25 μg/ml 群と 比較しても培養開始後 36 時間以降、増殖が有意に抑制されました(p<0.05)。AV および PI 染色では、a-TEA 処理により培養開始後 6 時間以降、AV 陽性細胞の増加が認められました。 JC-1 染色ではa-TEA 処理により培養開始後 12 時間以降、赤色と緑色の蛍光強度比が対照群 と比較して有意に低下しました(p<0.05)。DCFH-DA および mtSOX 染色では 60 分間のa -TEA 処理後、DCFH-DA の蛍光強度には対照群と比較して有意差は認められなかったものの mtSOX の蛍光強度は対照群と比較して有意に増加しました (p<0.05)。以上、T. congolense の in vitro 培養系において、a-TEA の直接的かつ濃度依存的な増殖抑制効果を認めました。ま た、この効果は、a-TEA が T. congolense のミトコンドリアに特異的な酸化ストレスを発生 させることでミトコンドリアの機能を障害し、アポトーシスを引き起こした結果であると考え られる成績でした。本研究により、a-TEAは、がん細胞と同様の作用機序により抗原虫効果を 示すことが示唆されたましたが、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。昨年度までに、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および過剰排卵の誘起を試みた結果、IAS と eCG の混合投与によって発情が誘起され、過排卵に至ること、また、eCG 単独投与で見られた P4 濃度の低値および排卵率の低下を改善できること見出し、さらには、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た結果、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頭との成績を得ました。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。そこで本年度は、適切な P4 および E1 濃度を 維持できる IAS 投与量を見出すために、体表面積に基づいた IAS の投与量(0.07 ml/kg)の 妥当性を検討しました。0.07 ml/kg IAS と eCG の併用により、7 頭中 6 頭で発情徴候が認め られ、そのうち 5 頭で排卵が確認されました。これらの成績は IAS を 0.5 ml/kg から 0.07 ml/kg に減量しても発情を誘起できることを示しています。排卵に至った個体の平均卵胞数は 11 個、平均黄体数は 7.2 個であり、排卵率は 65.5%でした。卵胞数は自然発情時の 7.8 個 (Tsuchida et al., 2021) よりも 3 個以上多い結果でしたが、黄体形成は自然発情時(7.8 個、 Tsuchida et al., 2021) と同等数でした。IAS 投与量が 0.5 ml/kg の時の平均卵胞数および 黄体数は 12.3 個で、排卵率は 100%であったことから、この成績と比較すると黄体数は約 5 個減少した結果でした。過剰排卵となった個体(黄体数 10)の血中エストラジオール濃度は 200 pg/ml を超え、0.5 ml/kg IAS 投与時の非妊娠群と同様の推移を示しました。非生理的な エストラジオール濃度の上昇はヒトやマウスで胚の着床阻害が報告されています。昨年の我々 の交配実験の結果からは、イヌでも同様の現象が生じた可能性があり、本実験の過剰排卵とな った個体も妊娠には至らないものと推測されました。 昨年の 0.5 ml/kg IAS 投与の実験では、 非生理的に上昇したエストラジオール濃度が原因で妊娠阻害が起こり妊娠率は 50%、平均産 仔数は2.7頭でした。今年度は、IASの量を減らすことでエストラジオール濃度の上昇を抑え、 妊娠可能な範囲に留めることを目指しましたが、本実験のエストラジオール濃度は、0.5 ml/kg IAS 投与時の妊娠群に比べ上昇傾向にあるものの LH-4 以降有意差はなく、0.5 ml/kg IAS 投 与時の非妊娠群より有意に低いことから、妊娠の可能性が十分にあることが期待される成績で した。0.07 ml/kg IAS と eCG の併用処置では過排卵処置の効果は見られなかったものの、性 周期の任意なタイミングで発情を誘起できる点から効率的な繁殖が行える可能性があるため、 今後、交配実験を行い妊娠率、リッターサイズを調べることが求められます。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- 日本卵子学会常任理事・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. 2023 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)

 Paul Franck Adjou Moumouni, Souichirou Naomasa, Bumduuren Tuvshintulga, Nariko Sato, Kiyoshi Okado, Weiqing Zheng, Seung-Hun Lee, Juan Mosqueda, <u>Hiroshi Suzuki</u>, 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. doi: 10.3390/microorganisms11040822.

総説

 Mototada Shichiri, <u>Hiroshi Suzuki</u>, 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. doi: 10.3164/jcbn.22-61.

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. マダ二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)

先端治療学分野

◆------教授 西 川 義 文 (Yoshifumi Nishikawa)

1. 研究テーマの概要

医学分野で重要なマラリア原虫は、2021年の1年間に約2億4700万人が感染し、推計61万9,000人が死亡しています。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撹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. 2023 年度研究の総括

ネオスポラ抗原 NcSAG1 は原虫の宿主細胞への接着と侵入に関与していることが示唆されている。そこで、NcSAG1 がネオスポラ症の病因に寄与していることを確認するため、NcSAG1 の遺伝子破壊株(NcSAG1KO)を作製し、in vitro および in vivo における解析を行った。NcSAG1 遺伝子の欠損は、感染率を有意に低下させ、原虫の宿主細胞からの脱出を低下させた。非妊娠 BALB/c マウスを用いた in vivo 試験では、NcSAG1KO 感染群は親株感染群に比べて生存率が有意に高く、体重変化も少なかった。また、BALB/c マウスの垂直感染モデルについては、NcSAG1 遺伝子を欠損させることにより、仔マウスの生存率が有意に向上し、仔マウスの脳内原虫感染率が大幅に低下した。以上より、NcSAG1 がネオスポラの病態形成における重要な分子であることが示唆された。(論文リスト2)

薬剤耐性マラリア原虫の増加や蔓延は甚大な問題となっているため、新たな治療薬の探索が求められている。我々のスクリーニングの結果、フェベスチン(Phebestin)を見出した。in-silico 試験の結果、フェベスチンはマラリア原虫の M1 アラニルアミノペプチダーゼ(PfM1AAP)およ

び M17 ロイシルアミノペプチダーゼ (PfM17LAP) に結合することが判明した。マウスマラリア 原虫 P. yoelii 17XNL 感染マウスを用いた in vivo 評価では、20 mg/kg のフェベスチンを 1 日 1 回、7 日間投与した結果、フェベスチン投与群(19.53%)の寄生虫血症ピークは、無投与群(29.55%)よりも有意に低かった。また、同用量・同治療において、マウスマラリア原虫 P. berghei ANKA 感染マウスは無治療マウスと比較して寄生虫血症レベルが低下し、生存率も改善した。これらの結果は、フェベスチンがマラリアに対する治療薬として開発可能な有望な候補であることを示している。(論文リスト5)

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- 日本獣医学会評議員
- 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

- (第2回)原虫研創薬研究プロジェクトセミナー 2024年1月24日
- ・ (第1回)原虫研創薬研究プロジェクト・創薬シンポジウム 2024年2月16日

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 分子寄生虫・マラリア研究ファーラム世話人
- 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. 2023 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)

- Ruenruetai Udonsom, Poom Adisakwattana, Supaluk Popruk, Onrapak Reamtong, Charoonluk Jirapattharasate, Tipparat Thiangtrongjit, Sarinya Rerkyusuke, Aran Chanlun, Tanjila Hasan, Manas Kotepui, Sukhontha Siri, <u>Yoshifumi Nishikawa</u>, Aongart Mahittikorn, Evaluation of Immunodiagnostic Performances of *Neospora* caninum Peroxiredoxin 2 (NcPrx2), Microneme 4 (NcMIC4), and Surface Antigen 1 (NcSAG1) Recombinant Proteins for Bovine Neosporosis. **Animals (Basel).** 2024 Feb; 14(4): 531. doi: 10.3390/ani14040531.
- 2. Hanan H Abdelbaky, Md Masudur Rahman, Naomi Shimoda, Yu Chen, Tanjila Hasan,

Nanako Ushio, <u>Yoshifumi Nishikawa</u>, *Neospora caninum* surface antigen 1 is a major determinant of the pathogenesis of neosporosis in nonpregnant and pregnant mice. **Frontiers in Microbiology.** 2024 Jan: 14: 1334447. doi: 10.3389/fmicb.2023. 1334447.

- Ryotaro Oyama, Harumichi Ishigame, Hiroki Tanaka, Naho Tateshita, Moeko Itazawa, Ryosuke Imai, Naomasa Nishiumi, Jun-Ichi Kishikawa, Takayuki Kato, Jessica Anindita, Yoshifumi Nishikawa, Masatoshi Maeki, Manabu Tokeshi, Kota Tange, Yuta Nakai, Yu Sakurai, Takaharu Okada, Hidetaka Akita, An Ionizable Lipid Material with a Vitamin E Scaffold as an mRNA Vaccine Platform for Efficient Cytotoxic T Cell Responses. ACS Nano. 2023 Oct; 17(19): 18758-18774. doi: 10.1021/acsnano.3c02251.
- 4. Kazuhisa Yamada, Akira Tazaki, Nanako Ushio-Watanabe, Yoshihiko Usui, Atsunobu Takeda, Masaki Matsunaga, Ayana Suzumura, Hideyuki Shimizu, Hao Zheng, Nanang R Ariefta, Masahiro Yamamoto, Hideaki Hara, Hiroshi Goto, Koh-Hei Sonoda, Koji M Nishiguchi, Masashi Kato, <u>Yoshifumi Nishikawa</u>, Shinya Toyokuni, Hiroki Kaneko, Retinal ferroptosis as a critical mechanism for the induction of retinochoroiditis during ocular toxoplasmosis. Redox Biology. 2023 Nov: 67: 102890. doi: 10.1016/j.redox. 2023.102890.
- Nanang R Ariefta, Baldorj Pagmadulam, Masaki Hatano, Noriko Ikeda, Kunio Isshiki, Kazuaki Matoba, Masayuki Igarashi, Coh-Ichi Nihei, <u>Yoshifumi Nishikawa</u>, Antiplasmodial Activity Evaluation of a Bestatin-Related Aminopeptidase Inhibitor, Phebestin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2023 Jul; 67(7): e0160622. doi: 10.1128/aac.01606-22.
- 6. Mo Zhou, Jun Xie, Osamu Kawase, <u>Yoshifumi Nishikawa</u>, Shengwei Ji, Shanyuan Zhu, Shinuo Cao, Xuenan Xuan, Characterization of anti-erythrocyte and anti-platelet antibodies in hemolytic anemia and thrombocytopenia induced by *Plasmodium* spp. and *Babesia* spp. infection in mice. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.** 2023 Apr; 13: 1143138. doi: 10.3389/fcimb.2023.1143138.

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

8. 招待講演等

- 1. Brain manipulation by intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*. Mahidol University セミナー、タイ・マヒドン大学熱帯医学部、2023 年 5 月 23 日
- 2. Development of next generation vaccine against *Toxoplasma gondii*、青海省獣医学研究 所セミナー、中国・青海省獣医学研究所、2023 年 8 月 29 日
- 3. トキソプラズマ感染症の新しい解釈: 原虫感染は宿主動物の脳機能や行動を操作することができるのか?、第28回日本生殖内分泌学会、日本専門医機構認定 共通講習(感染対策)、大津市民会館、2023年11月18日
- 4. Control strategies for Toxoplasma infection in humans and animals、ベルン大学 DIP Seminar、スイス・ベルン大学獣医学部、2024 年 3 月 20 日

9. 獲得研究費

- 1. 令和5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とクリプトスポリジウムが起こすヒト胞子虫類原虫症の病態理解・感染実態把握・制御に向けた総合的研究開発、トキソプラズマ症病態マーカーの同定(23fk0108682s0501)、分担、令和5年度~令和7年度
- 2. 令和5年度 挑戦的研究(萌芽)(文部科学省)、ネオスポラ感染症に対する環境を汚染しない新たな弱毒生ワクチンの開発研究(23K18071)、代表、令和5年度~令和7年度
- 3. 令和5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5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5年度
- 4. 令和5年度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(北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所)、トキソプラズマ原虫近縁種の比較トランスクリプトーム解析による病原性決定因子の遺伝子発現調節機構の解明、代表、令和5年度
- 5. 令和5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
- 6. 令和5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
- 7. 令和5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ーシスか?(22K09810)、分担、令和4年度~令和6年度

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

- 1. 日本テレビ「カズレーザーと学ぶ。」2023 年 4 月 11 日、トキソプラズマの放送に関する取材協力
- 2. 読売新聞「みんなの科学・オオカミをリーダー志向に」2023年6月15日、取材協力
- 3. NOSAI ほっかいどう「帯広畜産大学を訪ねる」2023年9月、取材協力
- 4. 共同プレスリリース(名古屋大学)「眼トキソプラズマ症の病態に 鉄を伴う細胞死であるフェロトーシスが関与していることを発見 ~眼トキソプラズマ症の新規診断方法と治療法の確立へ~」2023 年 10 月 4 日

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、トキソプラズマ分泌性タンパク質と宿主ミトコンドリアの親和性解析、2023年4月1日~2024年3月31日、2023年度原虫病研究センター共同研究
- 3. 兼子 裕規: 名古屋大学 医学系研究科・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ーシスの研究、2023 年4月1日~2024年3月31日、2023年度原虫病研究センター共同研究
- 4. 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γδT 細胞の役割の解析、2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 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、2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 年度原 虫病研究センター共同研究

先端治療学分野

◆------特任助教 渡 邉 奈 々 子 (Nanako Ushio-Watanabe)

1. 研究テーマの概要

トキソプラズマ(Toxoplasma gondii)とネオスポラ(Neospora caninum)は宿主域が異なる一方、水平感染や垂直感染によって伝播し、脳内シストとして慢性感染し、妊娠期には異常産を引き起こす点で類似点も多くあります。トキソプラズマは先天性または後天性に感染し、臨床症状としては先天性トキソプラズマ症、脳トキソプラズマ症、眼トキソプラズマ症を引き起こします。したがって、自身の研究テーマとしても中枢神経系における病態、網膜における病態、妊娠期の病態と3つを掲げ、我々の研究室で培ってきたマウスモデルや培養系の技術に、自身のもつ病理学的なアプローチを加え、解析を進めています。さらに、その病理学的知見を用いて、当研究室で発見した薬物の効果および毒性についてマウスモデルを用いて評価しています。

2. 主な研究テーマ

- 原虫感染による中枢神経の病態
- 原虫感染による網膜の病態
- 原虫感染による妊娠期の病態

3. 2023 年度研究の総括

原虫感染による中枢神経の病態

「ネオスポラ感染における脳の病態に関与する原虫由来分子の検討」

ネオスポラ原虫は水平感染や垂直感染によって伝播され、牛には流死産などの異常産や新生子 牛の神経症状を引き起こすことが問題となっています。神経症状を呈した牛では、炎症が血管 周囲に限局せず脳実質に波及するという特徴を有しており、マウスでは壊死巣を伴います。今 回、いくつかの原虫由来分子が感染した神経細胞の細胞体および、周囲の壊死巣に分布するこ とを明らかにしました。このことから、原虫由来分子が感染細胞から分泌または、細胞死に伴って放出されることによって壊死巣に移行する可能性が考えられました。

原虫感染による妊娠期の病態

「先天性トキソプラズマ症における胎盤障害と細胞外小胞の評価」

妊娠期にトキソプラズマに感染すると、異常産や先天性トキソプラズマ症が引き起こされます。 先天性トキソプラズマ症の確定診断は羊水 PCR 検査によって行われますが、PCR 陽性率は非常に低く、新規診断法の開発が必要です。近年、羊水の細胞外小胞が胎盤や胎児の代謝を反映するマーカーとして注目されていることから、今回マウスモデルの胎盤機能障害を病理学的に評価するとともに、羊水の細胞外小胞について発現変動遺伝子を検索しました。その結果、脂質代謝に関連する異常が胎盤機能障害に関与している可能性が示唆されました。今後は細胞外小胞で検出された遺伝子群がトキソプラズマ感染特異的かを調べるとともに、病態への関与を詳細に検討する予定です。本研究は若手研究(22K15006)の研究費で実施しています。

4. 学会等の活動状況

- ① 所属学会等、役職等
- · 日本寄生虫学会
- 日本獣医病理学専門家協会
- 日本獣医学会
- 日本毒性病理学会

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. 2023 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)

- Hanan H Abdelbaky, Md Masudur Rahman, Naomi Shimoda, Yu Chen, Tanjila Hasan, <u>Nanako Ushio-Watanabe</u>, Yoshifumi Nishikawa, *Neospora caninum* surface antigen
 1 is a major determinant of the pathogenesis of neosporosis in nonpregnant and
 pregnant mice. Frontiers in Microbiology. 2024 Jan: 14: 1334447. doi: 10.3389/
 fmicb.2023.1334447.
- Kazuhisa Yamada, Akira Tazaki, Nanako Ushio-Watanabe, Yoshihiko Usui, Atsunobu Takeda, Masaaki Matsunaga, Ayana Suzumura, Hideyuki Shimizu, Hao Zheng, Nanang R Ariefta, Masahiro Yamamoto, Hideaki Hara, Hiroshi Goto, Koh-Hei Sonoda, Koji M Nishiguchi, Masashi Kato, Yoshifumi Nishikawa, Shinya Toyokuni, Hiroki Kaneko, Retinal ferroptosis as a critical mechanism for the induction of retinochoroiditis during ocular toxoplasmosis. Redox Biology. 2023 Nov: 67: 102890. doi: 10.1016/j.redox. 2023.102890.

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

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

- 1. 令和 5 年度 若手研究 妊娠期のトキソプラズマ症における脂質代謝調節機構とその影響についての解明(22K15006) 代表 令和 4 年度~令和 5 年度
- 2. 令和5年度 挑戦的研究(萌芽)ネオスポラ感染症に対する環境を汚染しない新たな弱毒生ワクチンの開発研究 分担 令和5年度~令和7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)

先端治療学分野

◆------特任助教 窪 田 理 恵 (Rie Kubota)

1. 研究テーマの概要

クリプトスポリジウム原虫はすべての哺乳動物に感染し、下痢を引き起こす病原体です。毎年、世界で50万人以上の5歳未満の子供が下痢性疾患によって死亡しており、クリプトスポリジウム原虫は、その原因病原体の1つです。ヒトだけではなく、仔牛のクリプトスポリジウム原虫感染は、重度の下痢や他の病原体との混合感染を引き起こし、衰弱・死亡リスクが上昇するため、畜産業においても問題となっています。しかし、クリプトスポリジウム原虫に有効な薬剤はなく、クリプトスポリジウム症の治療は対処療法であるため、抗クリプトスポリジウム薬や予防薬の開発が喫緊の課題です。我々の研究室では、マウス感染モデルを使って、原虫の細胞感染メカニズムや原虫の発育メカニズムの解明、抗クリプトスポリジウム薬の開発、ワクチンの抗原となる原虫因子に関する研究を行っています。

2. 主な研究テーマ

- 抗クリプトスポリジウム原虫薬の探索
- ・ クリプトスポリジウム原虫の細胞侵入メカニズムや発育メカニズムの解明
- ・ 腸管オルガノイドを用いたクリプトスポリジウム原虫の長期 in vitro 培養系の構築
- ワクチン候補原虫抗原の探索

3. 2023 年度研究の総括

· クリプトスポリジウム原虫の in vitro 培養系の構築

抗クリプトスポリジウム原虫薬を探索するためには in vitro 培養系の構築が必要です。クリプトスポリジウム原虫は in vitro 培養下でヒト回盲腸腺がん(HCT-8)細胞に感染し、72 時間で増殖が停止します。そこで、HCT-8 細胞を用いたクリプトスポリジウム原虫の培養系の確立ならびに、長期間の in vitro 培養が可能な腸管オルガノイドを用いてクリプトスポリジウム原虫の培養系の構築を目指しました。今回、HCT-8 細胞を用いた原虫培養系の構築および、マウス由来腸管から小腸上皮細胞の単離し腸管オルガノイドの樹立、クリプトスポリジウム原虫が感染することを確認しました。構築した in vitro 培養系を用いることで、化合物ライブラリーからクリプトスポリジウム原虫に有効な候補抗原虫薬の探索および作用機序の解明につながることが期待されます。

· クリプトスポリジウム原虫の in vivo 培養系の構築

IFN $\gamma^{-/-}$ マウスを用いて、クリプトスポリジウム原虫(*Cryptosporidium parvum*)の系統維持が可能です。そこで本年度は、IFN $\gamma^{-/-}$ マウスの導入・維持を行いました。今後は invivo 下でも薬効効果の高い抗原虫薬の探索を実施する予定です。また、CRISPR/Cas9 システムによる遺伝子改変クリプトスポリジウム原虫を作出し、分子生物学的な手法を用いて原虫が細胞に侵入および発育するメカニズムの解明を目指します。

4. 学会等の活動状況

- ① 所属学会等、役職等
- 日本寄生虫学会
- 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. 2023 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

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5年度 特別研究員奨励費(国内研究)(文部科学省)、マラリア原虫の新規アルテミシニン強耐性株の解析と耐性遺伝子の同定(22KJ1203)、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

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)

高度診断学分野

◆-----教授 横 山 直 明 (Naoaki Yokoyama)

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) 症は、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症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、"牛バベシア症"と"馬ピロプラズマ症"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、動物ピロプラズマ症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、ピロプラズマ症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、ピロプラズマ症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症に関する国際疫学研究
- 国内に蔓延する牛ピロプラズマ症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
- +および馬ピロプラズマ症の診断法、治療薬、および予防法の確立に向けた基礎研究
- ・ 人バベシア症に関する国際疫学研究

3. 2023 年度研究の総括

Theileria equi の 5 種類の遺伝子型を鑑別できる PCR 法の開発: Theileria equi は、獣医学上重要な馬ピロプラズマ症を引き起こします。 T. equi は、18S rRNA 配列に基づいて、A、B、C、D、E の 5 つの遺伝子型に分類できます。 これらの遺伝子型は、疾病の管理と制御に重要な意味を持ちます。 本研究では各遺伝子型を特異的に検出できる PCR 法の開発を試みました。各遺伝子型の 18S rRNA 配列を特異的に増幅できるプライマーを設計し、各遺伝子型の配列を含むプラスミドを用いて、その特異性を評価しました。その後、計 270 頭の T. equi-陽性馬の血液 DNA サンプル(スリランカのロバ: 92 頭、パラグアイの馬: 178 頭)を用いて、本PCR 法の感度を検証しました。その結果、本 PCR 法は目的とした遺伝子型のみを正確に検出できることが確認されました。また本法は、スリランカのロバサンプルでは 4 つの遺伝子型(A、C、D、E)を、パラグアイの馬サンプルでは 5 つの遺伝子型すべてを検出しました。特に、本 PCR 法は、スリランカとパラグアイのサンプルのそれぞれ 90.2%と 22.5%で、さまざまな組み合わせの複数の遺伝子型による重複感染を検出できる機能も備えていました。本研究で開発された PCR 法は T. equi 遺伝子型を特異的かつ高感度に検出できる有用な診断法であることが証明されました。本研究は、パラグアイ(Centro de Diagnostico Veterinario,

Universidad Nacional de Canendiyu) とスリランカ(Veterinary Research Institute、Department of Animal Production and Health)との国際共同研究として実施しました。

- ・モンゴルのヤクに感染している牛バベシア種の分子疫学調査:ヤクはモンゴルの畜産業にとって重要な家畜動物です。モンゴルのヤクは、牛、ラクダ、羊、山羊、馬などの様々な家畜動物種と一緒に飼育されています。最近我々は、臨床学的に重要な牛バベシア症を引き起こす Babesia bovis、Babesia bigemina、および Babesia naoakii が、モンゴルの牛だけでなく、ラクダにも感染している実態を報告しました。しかし、ヤクにおける牛バベシア種の感染は未解明のままでした。そこで本研究では、モンゴルの 8 県で放牧されているヤクの感染疫学調査を行いました。計 375 頭のヤクから血液を採取し DNA を抽出した後、特異的 PCR 法を用いて上記3種の牛バベシア種の感染について検査しました。その結果、238 頭(63.5%)と 8 頭(2.1%)のヤクが、それぞれ B. bovis と B. bigemina に感染していたことが示されました。一方で、B. naoakii は検出されませんでした。この成果は、モンゴルのヤクにおける牛バベシア種の感染を初めて報告したものとなり、ヤクを対象とした牛バベシア症の疾病対策の重要性が示唆されました。本研究は、モンゴル(Institute of Veterinary Medicine)との国際共同研究として実施しました。
- ・ キルギスの牛に感染しているベクター媒介性牛病原体種の分子疫学調査: 牛はキルギス経済に 大きく貢献している家畜動物です。キルギスで飼育されているほとんどの牛は、大規模な共同 牧草地で放牧されています。しかしながら、キルギスの牛に感染するベクター媒介性病原体 (VBP) 種の疫学情報は不明のままでした。本研究では、キルギスで放牧されている計 319 頭 の牛から血液 DNA サンプルを調製し、*Babesia bovis、Babesia bigemina、Babesia naoakii*、 Theileria annulata, Theileria orientalis, Trypanosoma evansi, Trypanosoma theileri, および Anaplasma marginale の特異的 PCR 法を用いて、感染スクリーニング診断を行いま した。その結果、キルギスの牛は、B. naoakii と Try. evansi を除いた 6 つの病原体種に感染 していたことが示されました。最も多かった病原体は T. orientalis (84.3%) で、次いで B. bigemina (47.6%) 、 T. annulata (16.6%) 、 A. marginale (11.6%) 、 Try. theileri (7.2%) 、 および B. bovis(2.5%)でした。B. bovis 並びに B. bigemina 陰性サンプルに対して、Babesia 属特異的 PCR 法で追加スクリーニング解析を行ったところ、さらに Babesia major と Babesia occultans の感染も確認されました。これらの成果は、キルギスの牛における $B.\ bovis$ 、 $B.\$ bigemina、B. occultans、Try. theileri、および A. marginale 感染の最初の報告となり、キ ルギスの牛は VBP による感染症のリスクが極めて高いことが示唆されました。本研究は、キ ルギス(Kyrgyz Research Institute of Veterinary Named After A. Duisheev、Kyrgyz National Agrarian University Named After. K.I. Scryabin)との国際共同研究として実施し ました。
- ・ <u>マイクロネ</u>ーム接着リピートドメイン<u>の破壊は、in vitro</u> での Babesia bovis の増殖に影響を与えない: 赤血球内寄生性原虫である Babesia bovis は、最も病原性の高い牛バベシア症を引

き起こし、畜産業に悪影響を及ぼしています。その制御法の開発には、*B. bovis* の生物学に関する包括的な知識が必要です。*B. bovis* は牛赤血球に侵入し無性生殖を行いますが、原虫のマイクロネームタンパク質が、そのマイクロネーム接着リピート(MAR)ドメインを介して宿主赤血球上のシアル酸に結合しながら侵入を果たすと考えられています。本研究では、緑色蛍光タンパク質-ブラストサイジン-S-デアミナーゼの融合遺伝子を *B. bovis* のゲノムに組み込むことで、マイクロネームタンパク質(BBOV_III011730)の MAR ドメインをコードする領域を欠失させることに成功しました。その MAR ドメインを欠く遺伝子組換え *B. bovis* は、*in vitro* で牛赤血球に侵入し、親系統と同様の速度で増殖しました。我々の研究成果から、MARドメインが *B. bovis* の赤血球内増殖には必須ではないことが明らかとなりました。

・ 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:馬ピロプラズマ症は、Theileria equi と Babesia caballi の感染によって引き起こされるマダ二媒介性馬原虫病です。本疾病は世界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、その DNA サンプルを用いて PCR による T. equi と B. caballi の感染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。

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 (アルゼンチン)「Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in apparently healthy horses in Argentina」、原虫病研究センター/CLINICA EQUINA SRL(オンライン)、2024年3月18日
- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (キルギス)「Molecular prevalence and genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Kyrgyzstan」、原虫病研究センター/Kyrgyz Research Institute of Veterinary Named After A. Duisheev(オンライン)、2023年12月21日(ロシア語)、2023年11月16日(英語)

- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (インド)「Inhibitory activity of Artemisia scoparia methanolic extract and its lead molecules against *Theileria equi*」、原虫病研究センター/ ICAR-National Research Centre on Equines(対面)、2023 年 12 月 8 日
- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (スリランカ)「Epidemiology and clinical significance of *Theileria* sp. Yokoyama in cattle in Sri Lanka」、原虫病研究センター/Veterinary Research Institute (オンライン)、2023年11月2日
- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (マラウイ)「Molecular detection and genetic characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses and donkeys in Malawi」、原虫病研究センター/Lilongwe University of Agriculture & Natural Resources (オンライン)、2023 年 7 月 18 日
- ・ WOAH Academic Exchange Seminar (モンゴル)「Molecular biological studies on tick vectors for the bovine *Babesia* parasite species in Mongolia」、原虫病研究センター /Institute of Veterinary Medicine (オンライン)、2023年6月27日
- WOAH Academic Exchange Seminar (パラグアイ)「Molecular epidemiological survey of bovine babesiosis in Paraguay」、原虫病研究センター/Animal Health Department, SENACSA (オンライン)、2023年4月20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「牛バベシア症」専門家
- ・ WOAH リファレンスラボラトリー「馬ピロプラズマ症」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. 2023 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)

- Yihong Ma, Yingna Jian, Geping Wang, Xiuping Li, Guanghua Wang, Yong Hu, <u>Naoaki</u> <u>Yokoyama</u>, Liqing Ma*, Xuenan Xuan*, Molecular Identification of *Babesia* and *Theileria* Infections in Livestock in the Qinghai-Tibetan Plateau Area, China. **Animals** (Basel). 2024 Feb; 14(3): 476. doi: 10.3390/ani14030476.
- 2. Yihong Ma, Yingna Jian, Geping Wang, Iqra Zafar, Xiuping Li, Guanghua Wang, Yong Hu, **Naoaki Yokoyama**, Liqing Ma*, Xuenan Xuan*, Epidemiological Investigation of Tick-Borne Bacterial Pathogens in Domestic Animals from the Qinghai-Tibetan Plateau

- Area, China. **Pathogens.** 2024 Jan; 13(1): 86. doi: 10.3390/ pathogens13010086.
- 3. Believe Ahedor, Davaajav Otgonsuren, Atambekova Zhyldyz, Azirwan Guswanto, Noel Muthoni Mumbi Ngigi, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Hemal Kothalawala, Nizanantha Kalaichelvan, Seekkuge Susil Priyantha Silva, Hemali Kothalawala, Tomás Javier Acosta, Thillaiampalam Sivakumar, Naoaki Yokoyama*, Development and evaluation of specific polymerase chain reaction assays for detecting *Theileria equi* genotypes. Parasites & Vectors. 2023 Nov; 16(1): 435. doi: 10.1186/s13071-023-06045-z.
- 4. Davaajav Otgonsuren, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Myagmar Zoljargal, Believe Ahedor, Thillaiampalam Sivakumar, Banzragch Battur, Badgar Battsetseg, <u>Naoaki Yokoyama*</u>, The First Survey of Bovine *Babesia* Species Infecting Yaks (*Bos grunniens*) in Mongolia. **Journal of Parasitology.** 2023 Oct; 109(5): 480-485. doi: 10.1645/22-93.
- Atambekova Zhyldyz, Kamarli Aitakin, Berdikulov Atabek, Jetigenov Elmurat, Nurgaziev Rysbek, Orozov Jailobek, Believe Ahedor, Davaajav Otgonsuren, Ngigi Noel Muthoni Mumbi, Azirwan Guswanto, Thillaiampalam Sivakumar, <u>Naoaki Yokoyama*</u>, An epidemiological survey of vector-borne pathogens infecting cattle in Kyrgyzstan. Parasitology International. 2023 Dec: 97: 102791. doi: 10.1016/j.parint.2023. 102791.
- 6. Bumduuren Tuvshintulga, Azirwan Guswanto, Arifin Budiman Nugraha, Thillaiampalam Sivakumar, Rika Umemiya-Shirafuji, Naoaki Yokoyama*, Disruption of a DNA fragment that encodes the microneme adhesive repeat domain-containing region of the BBOV_III011730 does not affect the blood stage growth of Babesia bovis in vitro. Molecular and Biochemical Parasitology. 2023 Jun; 255: 111576. doi: 10.1016/j.molbiopara.2023.111576.
- Believe Ahedor, Thillaiampalam Sivakumar, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Davaajav Otgonsuren, <u>Naoaki Yokoyama</u>, Tomás J Acosta*, PCR detection of Theileria equi and Babesia caballi in apparently healthy horses in Paraguay. <u>Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports.</u> 2023 Apr; 39: 100835. doi: 10.1016/j.vprsr.2023.100835.

総説

該当なし

著書

- 1. **横山 直明** (2024) : "獣医学"はおもしろい! ~やりがいのある、オンリーワンの進路を探して~、柊陵(愛知県立半田高等学校)、第 67 号、p142-147
- 2. **横山 直明**(2023): 帯広畜産大学でサブモジュール3を実施しました。NEWS LETTER(北

海道大学大学院・獣医学研究院)、第9巻、p3

- 3. 森 菜々美、Sivakumar, T., 水谷 友香、松井 伸一、河合 孝弘、白藤 梨可、猪熊 壽、<u>横山</u> 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、p22
- 4. 林田 京子、白藤 梨可、杉本 千尋、<u>横山 直明</u>(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、p23-27

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

- 1. WOAH 関連学術セミナーの開催:マラウイ、ウガンダ、キルギス、中国、モンゴル、インド、スリランカ、パラグアイ、アルゼンチン、農林水産省、沖縄県、北海道、半田高校、JICA、北海道大学、帯広畜産大学(26件)
- 2. WOAH 技術トレーニング研修会の開催:モンゴル、スリランカ、沖縄県、愛媛県、三重県、 静岡県、北海道、農林水産省、北海道大学、エランコジャパン(16 件)
- 3. 海外からの WOAH 診断依頼: イギリス、ドイツ、モンゴル、中国、スリランカ、ニュージーランド、アメリカ、アルゼンチン(32件; 1,817検体)
- 4. 国内からの WOAH 診断依頼:沖縄県、静岡県、北海道、麻布大学(21件;1,644検体)
- 5. WOAH コンサルティング依頼: イギリス、イタリア、ドイツ、チェコ、オーストリア、オランダ、モロッコ、マラウイ、アルジェリア、南アフリカ、バングラデシュ、中国、キルギス、インド、スリランカ、シンガポール、オーストラリア、アメリカ、アルゼンチン、日本(47件)
- 6. WOAH 診断用の試料提供(IFAT スライド): フランス、オーストリア、オランダ、中国、インド、アメリカ、アルゼンチン、日本(11 件; 4,535 枚)
- 7. WOAH 診断用の試料提供(DNA):ドイツ、マラウイ、モンゴル、シンガポール、インド、 キルギス、パラグアイ、アルゼンチン、日本(9 件;80 本)
- 8. インターンシップの受入:マラウイ、モンゴル、キルギス、インド、インドネシア、中国、パラグアイ、日本(10件、12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、中国、マラウイ、アルゼンチン、パラグアイ(8カ国)
- 10. WOAH リファレンスラボラトリー「牛バベシア症、馬ピロプラズマ症」、および 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」の活動報告書を WOAH に提出

8. 招待講演等

- 1. 「北海道に潜む"人にも感染する寄生虫"とは?」酪農部講習会、茶安別地域振興会酪農部(標茶)、2024年3月15日
- 2. 「北海道における牛小型ピロプラズマ病の現状と対策」放牧衛生技術検討会、十勝家畜保健衛生所(帯広)、2024年1月30日
- 3. 「Effective management of bovine babesiosis in endemic regions」招待講演、新疆農業

大学 (中国)、2023年10月27日

- 4. 「Effective management of bovine babesiosis in endemic regions」招待講演、JICA/マケレレ大学(ウガンダ)、2023 年 9 月 12 日
- 5. 「Effective management of bovine babesiosis in endemic regions」招待講演、青海大学 (中国)、2023 年 8 月 31 日
- 6. 「"獣医学"はおもしろい!」出張講義、愛知県立半田高等学校(半田)、2023年7月11日
- 7. 「OIE リファレンスラボラトリーの活動と最近の知見について」動物検疫所・業績発表会(招待講演)、農林水産省・動物検疫所(横浜)、2023年6月30日
- 8. 「OIE 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」技術研修会「沖縄牧野ダニ 事業」、沖縄県(那覇)、2023 年 6 月 20 日
- 9. 「牛の放牧衛生と寄生虫による放牧病」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)、2023 年 6 月 8 日

9. 獲得研究費

- 1. 令和 5 年度 家畜衛生対策事業 (農林水産省・消費・安全局) 「我が国の WOAH 認定施設活動 支援事業」、代表、令和 5 年度
- 2. 令和 5 年度 新興・再興感染症研究基盤創生事業・海外拠点活用研究領域(日本医療研究開発機構)「中国の放牧家畜が保有するマダニ媒介性の人獣共通感染症病原体を調査する疫学研究」、代表、令和 5 年度~令和 7 年度
- 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 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
- 6. 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合物の探索研究」(22F22402)、受入研究者(Guswanto)、令和4年度~令和6年度
- 7. 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
- 8. 令和 5 年度 WOAH 検査診断経費(帯広畜産大学)

10. 特許申請・取得

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. Badgar Battsetseg: 「国際疫学調査(モンゴル)」Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences, Mongolia, 2019 年 6 月~(部局間国際学術交流協定)、2003 年 10 月~(大学間国際学術交流協定)
- 2. Hemal Kothalawala: 「国際疫学調査 (スリランカ)」 Veterinary Seserch Institute, Sri Lanka, 2019 年 7 月~(部局間国際学術協定)
- 3. Bayinchahan: 「国際疫学調査(中国)」 Xinjiang Agricultural University, China, 2021 年 10 月~(部局間国際学術協定)、1999 年 7 月~(大学間国際学術交流協定)
- 4. Orozov Jailobek: 「国際疫学調査(キルギス)」Kyrgyz Research Institute of Veterinary Named After A. Duisheev, Kyrgyzstan, 2023 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, 2023 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, 2023 年度原虫病研究センター共同研究

高度診断学分野

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. 2023 年度研究の総括

フタトゲチマダニ Haemaphysalis longicornis Neumann, 1901 は、その医学的・獣医学的重要性から、世界的によく知られたマダニの一種であり、主に日本を含むアジア、オセアニアに分布しています。近年では米国においてもその存在が認められており、家畜や人に対する加害が懸念されています。日本では、フタトゲチマダニは牛の赤血球に寄生する原虫(タイレリア Theileria orientalis)を媒介するため、特に放牧地において対策を取るべき重要種として注視されています。他にも、バベシア原虫が原因の牛、犬のバベシア症、人における日本紅斑熱やウイルス性疾病を媒介するマダニ種であることが知られています。マダニは雌雄の交尾を経て子孫を残しますが、フタトゲチマダニには両性生殖(2 倍体)と産雌性単為生殖(3 倍体)による 2 つの系統が存在します。単為生殖系統は日本全国に広く分布していますが、両性生殖系統の北限は福島県とされています。マダニとしては例外的な特徴を持つことから、フタトゲチマダニは学術的にも重要な種と考えられており、単為生殖系統(岡山県由来)は 1961 年から、両性生殖系統(大分県由来)は 2008 年から実験室内で累代飼育され、様々な試験・研究に活用されてきました。つまり、「岡山系統」は 60 年以上、「大分系統」は 15 年以上、実験

室内で安定的に維持されていることになります。これまで、フタトゲチマダニのゲノム配列は、中国とニュージーランドで採集されたマダニについて公開されていました。最初のゲノムは、中国の野外で採集された雌 1 匹由来の幼ダニを解析したもので、そのサイズは 2.55 Gb でした。次いで、雄ダニと雌ダニの塩基配列が決定され、2.4-2.8 Gb と 3.6 Gb のゲノムがそれぞれ作成されました。さらに、同じく中国において、野外採集の雌雄 1 ペアから 6 世代を経て発生した雌ダニが解析に用いられ、3.16 Gb のゲノム配列が決定されました。一方、ニュージーランドからは、野外で採集された雌ダニ由来の卵を用いて塩基配列が決定され、7.36 Gb のゲノムが得られたと報告されました。各国の野外採集フタトゲチマダニのゲノムサイズは一致しておらず、その理由は不明です。そこで我々は、15 年以上安定的に実験室内で累代飼育されているフタトゲチマダニ両性生殖系統を解析対象とし、そのゲノム解読を試みました。50 匹の雌ダニ(未吸血)よりゲノム DNA を精製し、イルミナおよびナノポアシーケンサーを用いてDNA の塩基配列を決定しました。その結果、2.48Gbp、98,529 コンティグからなるドラフトゲノムが得られました。(論文リスト3)

4. 学会等の活動状況

- ① 所属学会等、役職等
- 日本獣医学会評議員
- 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
- 日本寄生虫学会評議員
- · 日本衛生動物学会

② 主催した学会、研究会等

該当なし

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2023 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)

- Boniface Chikufenji, Elisha Chatanga, Eloiza May Galon, Uday Kumar Mohanta, Gift Mdzukulu, Yihong Ma, Madalitso Nkhata, <u>Rika Umemiya-Shirafuji</u>, Xuenan Xuan, First report of dog ticks and tick-borne pathogens they are carrying in Malawi. Journal of Veterinary Medical Science. 2024 Feb; 86(2): 150-159. doi: 10.1292/jvms.23-0397.
- 2. Zhuowei Ma, Onur Ceylan, Eloiza May Galon, Uday Kumar Mohanta, Shengwei Ji, Hang Li, Thanh Thom Do, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Iqra Zafar, Mingming Liu, Ferda Sevinc, Xuenan Xuan, Molecular Identification of

- Piroplasmids in Ticks from Infested Small Ruminants in Konya Province, Turkey. **Pathogens.** 2023 Sep; 12(9): 1123. doi: 10.3390/pathogens12091123.
- 3. <u>Rika Umemiya-Shirafuji</u>, Xuenan Xuan, Kozo Fujisaki, Junya Yamagishi, Draft genome sequence data of *Haemaphysalis longicornis* Oita strain. **Data in Brief.** 2023 Jun; 49: 109352. doi: 10.1016/j.dib.2023.109352.
- 4. Shohei Ogata, <u>Rika Umemiya-Shirafuji</u>, Kodai Kusakisako, Keita Kakisaka, Elisha Chatanga, Naoki Hayashi, Yurie Taya, Yuma Ohari, Gita Sadaula Pandey, Abdelbaset Eweda Abdelbaset, Yongjin Qiu, Keita Matsuno, Nariaki Nonaka, Ryo Nakao, Investigation of vertical and horizontal transmission of *Spiroplasma* in ticks under laboratory conditions. **Scientific Reports.** 2023 Aug; 13(1): 13265. doi: 10.1038/s41598-023-39128-z.
- 5. Bumduuren Tuvshintulga, Azirwan Guswanto, Arifin Budiman Nugraha, Thillaiampalam Sivakumar, **Rika Umemiya-Shirafuji**, Naoaki Yokoyama, Disruption of a DNA fragment that encodes the microneme adhesive repeat domain-containing region of the BBOV_III011730 does not affect the blood stage growth of *Babesia bovis in vitro*. **Molecular and Biochemical Parasitology.** 2023 Jun; 255: 111576. doi: 10.1016/j.molbiopara.2023.111576.
- Kofi Dadzie Kwofie, Emmanuel Pacia Hernandez, Anisuzzaman, Hayato Kawada, Yuki Koike, Sana Sasaki, Takahiro Inoue, Kei Jimbo, Fusako Mikami, Danielle Ladzekpo, Rika Umemiya-Shirafuji, Kayoko Yamaji, Tetsuya Tanaka, Makoto Matsubayashi, Md Abdul Alim, Samuel Kweku Dadzie, Shiroh Iwanaga, Naotoshi Tsuji, Takeshi Hatta, RNA activation in ticks. Scientific Reports. 2023 Jun; 13(1): 9341. doi: 10.1038/s41598-023-36523-4.

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

1. 原虫病研究センター施設見学および寄生虫の標本展示、令和 5 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、2023 年 7 月 29 日

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)(文部科学省)、原虫感染マダニにおける臓器特異的ビ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

1. 受賞者: 水野 寛太 (共同獣医学課程6年)

受賞名:第 69 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 北日本支部合同大 会長賞

受賞テーマ:フタトゲチマダニにおける Immune Deficiency (IMD) 経路構成分子の探索と Babesia ovata に対する免疫機能について

受賞年: 2023年10月14日

12. 報道等

- 1. NHK 北海道 WEB サイト(2023 年 7 月 26 日)十勝からウガンダの酪農を救え! https://www.nhk.or.jp/hokkaido/articles/slug-n651fc28d7050/
- 2. NHK 北海道 WEB サイト(2024 年 3 月 6 日)ウガンダのマダニ研究者 帯広畜産大で最先端 研究を見学

https://www3.nhk.or.jp/sapporo-news/20240306/7000065373.html

13. 国内外との共同研究(共同研究契約締結分)

- 1. 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、2023年4月1日~2024年3月31日、2023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、 2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 年度原虫病研究センター共同研究
- 3. 中尾 亮:北海道大学大学院獣医学研究院、高増殖型マダニ細胞の作出、2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 年度原虫病研究センター共同研究
- 4. Consuelo Almazan: Autonomous University of Queretaro、Detection and surveillance of *Haemaphysalis longicornis* (Neuman, 1901) in Mexico、2023年4月1日~2024年3月31日、2023年度原虫病研究センター共同研究
- 5. 共同研究 A 株式会社、2023 年度

先端予防治療学分野

◆------教授 井 上 昇 (Noboru Inoue)

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を開発することを目指しています。

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ー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(こうえき)の病原体で、宿主特異性や好適寄生部位が異なっています。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、3種のトリパノソーマは別種に分類できないほど近縁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?」という問いに答えを見出すべく、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市場の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。特に日本を含む世界中に分布するアブは T. evansi や T. vivax を機械伝播する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と比べて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のが現状

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. 2023 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。得られたヒット化合物の類縁体を入手してトリパノソーマ増殖阻害活性を精査した結果、約10種類の候補化合物を得ることができた。次年度も引つづき薬剤候補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。
- ・ アブ唾液腺粗抗原を用いて抗アブ唾液腺抗体の検出を試みた結果、高い抗体価が通年持続する 低分子抗原とアブに吸血されている季節のみ抗体が産生される高分子抗原の2種類が存在することを明らかにした。

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
- 日本獣医学会疾患名用語委員会委員
- 日本獣医寄生虫学会常任理事
- 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

6. 2023 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)

- Adrian Miki C Macalanda, Eloiza May S Galon, Vernadyn A Morillo, Atcharaphan Wanlop, Kevin Austin L Ona, Xuenan Xuan, <u>Noboru Inoue</u>, Shin-Ichiro Kawazu, Keisuke Suganuma, Molecular detection and internal transcribed spacer-1 sequence diversity of *Trypanosoma evansi* in goats from Cavite, Philippines. **Journal of** Veterinary Medical Science. 2024 Jan; 86(1): 35-38. doi: 10.1292/jvms.23-0416.
- Nthatisi Innocentia Molefe-Nyembe, Oluyomi Stephen Adeyemi, Daisuke Kondoh, Kentaro Kato, <u>Noboru Inoue</u>, Keisuke Suganuma, In Vivo Efficacy of Curcumin and Curcumin Nanoparticle in *Trypanosoma congolense*, Broden 1904 (Kinetoplastea: Trypanosomatidae)-Infected Mice. **Pathogens.** 2023 Oct; 12(10): 1227. doi: 10.3390/pathogens 12101227.
- 3. Ai Yamazaki, Keisuke Suganuma, Yusuke Tanaka, Kenichi Watanabe, Shin-Ichiro Kawazu, Kiyoshi Kita, **Noboru Inoue**, Efficacy of oral administration of ascofuranone with and without glycerol against *Trypanosoma congolense*. **Experimental Parasitology.** 2023 Sep; 252: 108588. doi: 10.1016/j.exppara.2023.108588.
- 4. Iqra Zafar, Tomoyo Taniguchi, Hanadi B Baghdadi, Daisuke Kondoh, Mohamed Abdo Rizk, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Thom Do, Hang Li, Moaz M Amer, Ma Zhuowei, Ma Yihong, Jinlin Zhou, Noboru Inoue, Xuenan Xuan, Babesia microti alleviates disease manifestations caused by Plasmodium berghei ANKA in murine co-infection model of complicated malaria. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2023 Jul; 13: 1226088. doi: 10.3389/fcimb.2023.1226088.
- Afraa Elata, Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee D Ybanez, Ehab Mossaad, Caro B Salces, Gundolino P Bajenting, Adrian P Ybanez, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma, Molecular Detection of Animal Trypanosomes in Different Animal Species in the Visayas Region of the Philippines. Acta Parasitologica. 2023 Sep; 68(3): 604-611. doi: 10.1007/s11686-023-00696-9.
- 6. Yujon Hong, Keisuke Suganuma, Yuma Ohari, Mitsunori Kayano, Kenji Nakazaki, Shinya Fukumoto, Shin-Ichiro Kawazu, **Noboru Inoue**, Seasonal Variation and Factors Affecting *Trypanosoma theileri* Infection in Wild Sika Deer (Ezo Sika Deer *Cervus nippon yesoensis*) in Eastern Hokkaido. **Animals (Basel)**. 2023 May; 13(10): 1707. doi: 10.3390/ ani13101707.

総説

該当なし

著書

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

- 1. WOAH 診断試料の提供「顕微鏡検査用トリパノソーマ標準ギムザ染色標本」(令和 5 年度): イランと南アフリカへ計 14 件
- 2. WOAH 診断に関するコンサルタント・情報提供「スーラ病」(令和 5 年度): 日本(動物検疫所ほか)、WOAH アジア太平洋地域代表事務所、USA、インドネシア、モロッコ、オーストラリア、南アフリカ、イラン、中国へ計 11 件
- 3. WOAH リファレンスラボラトリー 「スーラ病」 の活動報告書を WOAH に提出 (2023 年 5 月)

8. 招待講演等

- 1. 「Dourine and surra」、国際獣疫事務局(WOAH)主催ウエビナー、 Webinars on equine diseases (https://rr-asia.woah.org/en/events/dourine-and-surra-webinar/)、2023 年 12月1日
- 2. 「トリパノソーマ症の基礎知識と WOAH マニュアルに基づく診断に際して考慮すべき事」、農林水産省・動物検疫所・精密検査部報告会特別講演会 (横浜・ハイブリッド)、2024 年 1 月 19日

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

1. モンゴル国「卓越研究者賞」受賞、受賞年: 2023年11月24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)

先端予防治療学分野(兼任:グローバルアグロメディシン研究センター)

◆------助教 菅 沼 啓 輔 (Keisuke Suganuma)

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
- 吸血昆虫及び吸血昆虫媒介性病原体の分散・発生動態の時空間的解析

3. 2023 年度研究の総括

- ・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。フィリピンにおいては、動物トリパノソーマ症(主としてスーラ病)は肝蛭についで畜産業に被害をもたらしている寄生虫病として知られ、その対策が望まれています。本年はビサヤ諸島地域で飼養されているスイギュウ、ウシ、ヤギ、ウマ及びルソン島カビテ州で飼養されているヤギを対象としたスーラ病の調査を行いました。その結果、どちらの調査でも調査対象の家畜に明確な臨床症状はないものの30 40%の家畜がPCR 検査で陽性となりました。フィリピンでは薬剤耐性トリパノソーマ症の流行と、特にスイギュウに対して高致死率なスーラ病の流行が認められることから、スイギュウに対しての感染源となりうる多種多様な家畜における感染状況の調査の重要性が示唆されました(論文リスト3,11)。
- ・野生動物は家畜への病原体の感染源として注意が必要な対象です。*T. theileri* は本邦のウシにも広く感染し、明確な臨床症状を示さないものの乳牛の生産性を低下させる病原体です(Suganuma *et al.*, 2022)。一方、ホンシュウジカやエゾシカにも *T. theileri* (-like trypanosome)が感染していることが知られていますが、その感染状況は不明です。今回、十勝地方で捕獲されたエゾシカを対象に、2年間にわたって *T. theileri* の感染状況調査を行いま

した。その結果、エゾシカにおける T. theileri の感染は季節変動を示すとともにエゾシカの年齢が上がるにつれて有意に上昇することがわかりました。またエゾシカにおける T. theileri の感染は、ベクター候補であるアブの活動と一致した夏季に有意に上昇しました。アブは家畜動物のみならず野生動物も吸血するため、アブの吸血行動に伴う野生動物から家畜動物への病原体移動の可能性が示唆されました(論文リスト 12)。

予防・治療薬に乏しいトリパノソーマ症対策のために、新規治療薬・予防薬の開発が求められ ています。トリパノソーマに特異的なI型ニトロレダクターゼを薬剤標的とした創薬のために、 ニトロフラン関連化合物の in vitro での抗トリパノソーマ活性評価及び in vivo マウスモデル を用いた治療効果評価を行いました。その結果、IC50 < 1 uM 以下と高い抗トリパノソーマ 活性を有する複数の化合物を特定しましたが、これらは in vivo での治療効果は認められませ んでした。今後の治療薬開発に向けて、in vivo での治療効果を得るための更なるニトロフラ ン関連化合物の評価が必要になります(論文リスト2,7,8)。また、トリパノソーマ特異的な 呼吸鎖酵素(Trypanosoma alternative oxidase)を薬剤標的とした抗トリパノソーマ活性化 合物アスコフラノンの経口投与による動物トリパノソーマ症に対する in vivo マウスモデルを 用いた治療効果評価を行いました。その結果、アスコフラノンに対する感受性の低い T. congolense による動物トリパノソーマ症であってもアスコフラノン 100 mg/kg の経口投与 で完治させることができることが明らかになりました(論文リスト 6)。さらに、動物トリパ ノソーマ症感染ウシモデルに対するアスコフラノン筋肉内注射による薬効評価試験を実施し ました。その結果、25 mg/kg を 7 日間連続投与することで *T. vivax* による動物トリパノソ ーマ症は再燃することなく完治しました。一方で T. congolense による動物トリパノソーマ症 は投与後一時的に血中からトリパノソーマが検出されなくなりましたが、その後再燃しました (論文リスト1)。これらの結果を踏まえ、今後の動物トリパノソーマ症予防・治療薬開発へ の貢献が期待されます。

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

6. 2023 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**, Mochabo Kennedy Miyoro, Chemuliti, Kiyoshi Kita, Noboru Inoue, Shin-ichiro Kawazu. Ascofuranone antibiotics is a promissing trypanocidal drug for nagana. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research.** 2024 Feb; 91(1): e1-e6. doi: 10.4102/ojvr.v91i1.2115.
- 2. Helena D Janse van Rensburg, David D N'Da, <u>Keisuke Suganuma</u>, *In vitro* trypanocidal potency and *in vivo* treatment efficacy of oligomeric ethylene glycoltethered nitrofurantoin derivatives. **European Journal of Pharmaceutical Sciences.** 2024 Jan; 192: 106668. doi: 10.1016/j.ejps.2023.106668.
- Adrian Miki C Macalanda, Eloiza May S Galon, Vernadyn A Morillo, Atcharaphan Wanlop, Kevin Austin L Ona, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Shin-Ichiro Kawazu, Keisuke Suganuma, Molecular detection and internal transcribed spacer-1 sequence diversity of *Trypanosoma evansi* in goats from Cavite, Philippines. Journal of Veterinary Medical Science. 2024 Jan; 86(1): 35-38. doi: 10.1292/jvms.23-0416.
- 4. Helena D Janse van Rensburg, David D N'Da, Keisuke Suganuma, In vitro and in vivo trypanocidal efficacy of nitrofuryl- and nitrothienylazines. ACS Omega. 2023 Oct; 8(45): 43088-43098. doi: 10.1021/acsomega.3c06508.
- Nthatisi Innocentia Molefe-Nyembe, Oluyomi Stephen Adeyemi, Daisuke Kondoh, Kentaro Kato, Noboru Inoue, <u>Keisuke Suganuma</u>, *In vivo* efficacy of curcumin and curcumin nanoparticle in *Trypanosoma congolense*, Broden 1904 (Kinetoplastea: Trypanosomatidae)-infected mice. **Pathogens.** 2023 Oct; 12(10): 1227. doi: 10.3390/pathogens 12101227.
- 6. Ai Yamazaki, **Keisuke Suganuma**, Yusuke Tanaka, Kenichi Watanabe, Shin-Ichiro Kawazu, Kiyoshi Kita, Noboru Inoue, Efficacy of oral administration of ascofuranone with and without glycerol against *Trypanosoma congolense*. **Experimental Parasitology.** 2023 Sep; 252: 108588. doi: 10.1016/j.exppara.2023.108588.
- 7. Helena D Janse van Rensburg, **Keisuke Suganuma**, David D N'Da, *In vitro* trypanocidal activities and structure-activity relationships of ciprofloxacin analogs. **Molecular Diversity.** 2023 Jul. doi: 10.1007/s11030-023-10704-9.
- 8. Anna Seetsi, David N'da, Nthatisi Molefe-Nyembe, **Keisuke Suganuma**, Tsepo Ramatla, Oriel Thekisoe, *In vitro* anti-trypanosomal activity of synthetic nitrofurantoin-triazole hybrids against *Trypanosoma* species causing human African trypanosomosis. **Fundamental & Clinical Pharmacology.** 2023 Jul. doi: 10.1111/fcp.12940.
- 9. Aya Yoshimura, Rio Saeki, Ryusuke Nakada, Shota Tomimoto, Takahiro Jomori, **Keisuke Suganuma**, Toshiyuki Wakimoto, Membrane-vesicle-mediated interbacterial communication activates silent secondary metabolite production.

- Angewandte Chemie International Edition. 2023 Jul; e202307304. doi: 10.1002/anie. 202307304.
- 10. Zhichao Wang, Ben-Yeddy Abel Chitama, <u>Keisuke Suganuma</u>, Yoshi Yamano, Sachiko Sugimoto, Susumu Kawakami, Osamu Kaneko, Hideaki Otsuka, Katsuyoshi Matsunami, Two new cytotoxic sesquiterpene-amino acid conjugates and a coumaringlucoside from *Crossostephium chinense*. **Molecules**. 2023 Jun; 28(12): 4696. doi: 10.3390/molecules28124696.
- 11. Afraa Elata, Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee D Ybanez, Ehab Mossaad, Caro B Salces, Gundolino P Bajenting, Adrian P Ybanez, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, **Keisuke Suganuma**, Molecular detection of animal trypanosomes in different animal species in the visayas region of the philippines. **Acta Parasitologica.** 2023 Sep; 68(3): 604-611. doi: 10.1007/s11686-023-00696-9.
- 12. Yujon Hong, <u>Keisuke Suganuma</u>, Yuma Ohari, Mitsunori Kayano, Kenji Nakazaki, Shinya Fukumoto, Shin-Ichiro Kawazu, Noboru Inoue, Seasonal variation and factors affecting *Trypanosoma theileri* infection in wild sika deer (Ezo Sika Deer *Cervus nippon yesoensis*) in Eastern Hokkaido. **Animals (Basel)**. 2023 May; 13(10): 1707. doi: 10.3390/ ani13101707.
- 13. 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 May; 209: 113615. doi: 10.1016/j.phytochem.2023.113615.

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. 「動物の寄生虫を科学する!―畜大から世界へー」令和5年度オープンキャンパス

8. 招待講演等

 2024 Global Alliance for Rapid Diagnostics Forum: Bridging Technologies and Market Needs, EAST & SOUTHEAST ASIA REGIONAL WEBINAR: Current Status and Advancements in Understanding and Combating Vector-borne Diseases

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 国際共同研究加速基金(国際共同研究強化(B))、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、分担、2021 年度~2025 年度
- 3. 2023 年度 基盤研究(B) (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)、分担、2023 年度~2027 年度
- 4. 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
- 5. 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
- 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~2024 年度
- 7. 長崎大熱帯医学研究所 一般共同研究、アスコフラノン産生真菌経口投与によるトリパノソーマ予防法の確立、2023年度

10. 特許申請・取得

- 1. A novel alkaloid compound with anti-trypanosomal activity from Oshima-shisone sponge (米国仮出願 63/578,496、出願日 2023 年 8 月 24 日)
- 2. 寄生虫によって惹起される疾患の予防剤又は治療剤(特願 2023-216798、出願日 2023 年 3月3日、 PCT/JP2024/8052、出願日 2024年3月4日)

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

- 1. 村田 敏拓: 東北医科薬科大学薬学部、漢方薬構成生薬 特に黄芩・黄耆のフラボノイド類 の原虫病への応用を志向した構造活性相関研究、2023 年4月1日~2024年3月31日、2023年度原虫病研究センター共同研究(番号17)
- 2. 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、2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 年 度原虫病研究センター共同研究(番号 7)

感染病理学分野

◆------教授 五 十 嵐 慎 (Makoto Igarashi)

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. 2023 年度研究の総括

Sarcocystis neurona の培養系を樹立し、増殖率を測定する系を確立した。

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
- 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. 2023 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

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

該当なし

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究(共同研究契約締結分)

該当なし

感染病理学分野

◆-------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。言いかえれば、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様な相互作用があるのか?はたしてベクターにとって病原体とは何物なのか?このような事象について、病原体とベクター昆虫がおりなす特有の生命現象を、実験室レベルでの基礎的実験データから、感染症アウトブレイク地域での国内外フィールド調査までを有機的に統合し、そして徹底的に解析することで、ベクターステージコントロールによる原虫病の制御を実現するため研究を行っています。また、近年問題となっているエゾシカなどの野生動物について、人獣共通感染症や家畜感染症のレゼルボアとしての意義を明らかにするため、地元に根ざした調査研究を実施しています。

2. 主な研究テーマ

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

3. 2023 年度研究の総括

- ・野生鳥獣は人獣共通感染法の観点から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、日本で最も絶滅が危惧されている野生哺乳動物であるイリオモテヤマネコを対象に、その主要生息地域である西表島で研究を実施しました。イリオモテヤマネコ、イエネコサンプルの収集・解析を行った結果、イリオモテヤマネコには高度にトキソプラズマ原虫が蔓延していることが明らになりました。イリオモテヤマネコとイエネコにおけるトキソプラズマの疫学情報を明らかにしたほか、イリオモテヤマネコの保全におけるトキソプラズマのリスクを解析しました。その結果、トキソプラズマ原虫がイリオモテヤマネコの個体数維持において負の要因となっていることが明らかとなりました。(論文リスト 4)。また絶滅危惧種であるオジロワシについての調査を行い、十勝に渡りで訪れるオジロワシから高病原性トリインフルエンザウイルス H5N1 Clade 2.3.4.4b の分離同定に成功しました。この結果はオジロワシ等に由来するインフルエンザウイルスが北海道十勝の養鶏産業に重大な影響を及ぼす可能性を示唆するものでありました(論文リスト 1)。
- ・ 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5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ミクロフィラリア血症モデルの臨床検体分離法への応用、フィラリアの媒介能に関する関連すると思われる遺伝子のノックダウン解析、近交系の樹立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表現型の比較解析を行いました。

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・倫理委員会委員長
- 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. 2023 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)

- James G Komu, Hiep Dinh Nguyen, Yohei Takeda, Shinya Fukumoto, Kunitoshi Imai, Hitoshi Takemae, Tetsuya Mizutani, Haruko Ogawa, Challenges for Precise Subtyping and Sequencing of a H5N1 Clade 2.3.4.4b Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Isolated in Japan in the 2022-2023 Season Using Classical Serological and Molecular Methods. Viruses. 2023 Nov; 15(11): 2274. doi: 10.3390/v15112274.
- Asako Haraguchi, Makoto Takano, Jun Hakozaki, Kazuhiko Nakayama, Sakure Nakamura, Yasunaga Yoshikawa, <u>Shinya Fukumoto</u>, Kodai Kusakisako, Hiromi Ikadai, Formation of free oocysts in *Anopheles* mosquitoesinjected with *Plasmodium* ookinetes. **Journal of Veterinary Medical Science.** 2023 Sep; 85(9): 921-928. doi: 10.1292/jyms.23-0099.
- Yujon Hong, Keisuke Suganuma, Yuma Ohari, Mitsunori Kayano, Kenji Nakazaki, <u>Shinya Fukumoto</u>, Shin-Ichiro Kawazu, Noboru Inoue, Seasonal Variation and Factors Affecting *Trypanosoma theileri* Infection in Wild Sika Deer (Ezo Sika Deer Cervus nippon yesoensis) in Eastern Hokkaido. Animals (Basel). 2023 May; 13(10): 1707. doi: 10.3390/ani13101707.

4. Takahiro Shirozu, Mitsunori Kayano, Fuyuko Hirose, Sugao Oshiro, Takashi Nagamine, Yasuyuki Endo, Masako Izawa, Xuenan Xuan, Shinya Fukumoto, Serological survey of Toxoplasma gondii infection in endangered Iriomote cat (Prionailurus bengalensis iriomotensis) and simulation of the effect on population dynamics. European Journal of Wildlife Research. 2023 69(4). doi: 10.1007/s10344-023-01702-1

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

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: 未永 羅綺 (共同獣医学課程6年)

受賞名:第 69 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 若手奨励賞 受賞テーマ: Entamoeba invadens の感染はウミガメ飼育におけるリスク要因となる

受賞年: 2023年10月14日

12. 報道等

該当なし

- 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)

地球規模感染症学分野

◆------教授 玄 学 南 (Xuenan Xuan)

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. 2023 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、現行の治療薬 であるアトバコンとの併用療法は、現行治療薬に対する薬剤抵抗性株にも対応できる効果的方 法であることを証明した。(論文リスト 1)
- ・マウスのバベシア症・マラリア混合感染モデルをマラリア原虫感染に対する宿主防御免疫機構の解明を試みました。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、Plasmodium berghei ANKA(ネズミに脳マラリアを引き起こす)で再感染させると、部分的感染防御免疫が成立していることを証明しました。(論文リスト 20)。

・ 中国、バングラデシュ、トルコ、マラウイ、エジプトなどにおける家畜のマダ二媒介感染症の 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二媒 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 2-8)。

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
- 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)(2023 年 9 月 28 日、ナイロビ大学、ケニア)

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- 令和 5 年度 JRA「子牛の感染性下痢症の対策基盤事業」推進委員会委員
- 令和 5 年度 JRA「植物抽出物による豚飼料用抗生物質代替事業」推進委員会委員

6. 2023 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)

- Mingming Liu, Eloiza May Galon, Shenwei Ji, <u>Xuenan Xuan*</u>, Tafenoquine-Based Combination Therapies: A Step Toward Babesiosis Elimination. **Journal of Infectious Disseases.** 2024 May, 229: 1599. doi: 10.1093/infdis/jiae083.
- Moaz M Amer, Eloiza May Galon, Ahmed M Soliman, Thom Do, Iqra Zafar, Yihong Ma, Hang Li, Shengwei Ji, Uday Kumar Mohanta, Xuenan Xuan*, Molecular detection of tick-borne piroplasmids in camel blood samples collected from Cairo and Giza governorates, Egypt. Acta Tropica. 2024 May, 25: 107252. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107252.
- Uday Kumar Mohanta, S M Abdullah, Al-Wasef, Boniface Chikufenji, Zhuowei Ma, Hang Li, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Moaz M Amer, Thanh Thom Do, Saiful Islam, Tilak Chandra Nath, Yongchang Li, Rika Umemiya-Shirafuji, Qingyong Guo, Xuenan Xuan*, Acta Tropica. 2024 May; 256:107244. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107244.
- 4. Boniface Chikufenji, Uday Kumar Mohanta, Kyoko Hayashida, Elisha Chatanga, Eloiza May Galon, Nathan Kamanga, Aaron Edmond Ringo, Zhuowei Ma, **Xuenan Xuan***,

- Molecular detection and phylogenetic analysis of tick-borne pathogens in cattle from southern Malawi. **Veterinary Research Communications**. 2024 Apr; doi: 10.1007/s11259-024-10395-z.
- 5. Yihong Ma, Yingna Jian, Geping Wang, Xiuping Li, Guanghua Wang, Yong Hu, Naoaki Yokoyama, Liqing Ma, Xuenan Xuan*, Molecular Identification of Babesia and Theileria Infections in Livestock in the Qinghai-Tibetan Plateau Area, China. Animals (Basel). 2024 Feb; 14(3): 476. doi: 10.3390/ani14030476.
- 6. Yihong Ma, Yingna Jian, Geping Wang, Iqra Zafar, Xiuping Li, Guanghua Wang, Yong Hu, Naoaki Yokoyama, Liqing Ma, Xuenan Xuan*, Epidemiological Investigation of Tick-Borne Bacterial Pathogens in Domestic Animals from the Qinghai-Tibetan Plateau Area, China. Pathogens. 2024 Jan; 13(1): 86. doi: 10.3390/pathogens13010086.
- 7. Uday Kumar Mohanta, Manwana Pemba Marguerite, Shengwei Ji, Zhuowei Ma, Hang Li, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Moaz M Amer, Boniface Chikufenji, Thanh Thom Do, Onur Ceylan, Rika Umemiya-Shirafuji, **Xuenan Xuan***, Molecular survey of canine tick-borne pathogens in ticks and stray dogs in Dhaka city, Bangladesh. **Parasitology International.** 2024 Jan: 100: 102860. doi: 10.1016/j.parint.2024. 102860.
- Boniface Chikufenji, Elisha Chatanga, Eloiza May Galon, Uday Kumar Mohanta, Gift Mdzukulu, Yihong Ma, Madalitso Nkhata, Rika Umemiya-Shirafuji, <u>Xuenan Xuan*</u>, First report of dog ticks and tick-borne pathogens they are carrying in Malawi. Journal of Veterinary Medical Science. 2024 Feb; 86(2): 150-159. doi: 10.1292/jvms.23-0397.
- 9. Adrian Miki C Macalanda, Eloiza May S Galon, Vernadyn A Morillo, Atcharaphan Wanlop, Kevin Austin L Ona, <u>Xuenan Xuan</u>, Noboru Inoue, Shin-Ichiro Kawazu, Keisuke Suganuma, Molecular detection and internal transcribed spacer-1 sequence diversity of *Trypanosoma evansi* in goats from Cavite, Philippines. **Journal of Veterinary Medical Science.** 2024 Jan; 86(1): 35-38. doi: 10.1292/jvms.23-0416.
- 10. Shengwei Ji, Mohamed Abdo Rizk, Eloiza May Galon, El-Sayed El-Alfy, Yuki Mizukawa, Masayoshi Kojima, Mayumi Ikegami-Kawai, Motohiro Kaya, Mingming Liu, Isamu Itoh, Xuenan Xuan*, Anti-babesial activity of a series of 6,7-dimethoxyquinazoline-2,4-diamines (DMQDAs). Acta Tropica. 2024 Jan: 249: 107069. doi: 10.1016/j.actatropica.2023.107069.
- 11. Onur Ceylan, Zhuowei Ma, Ceylan Ceylan, Muhammed Hudai Culha, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Hang Li, Iqra Zafar, Uday Kumar Mohanta, Xuenan Xuan*, Ferda Sevinc, Wide bovine tick-borne pathogen spectrum: Predominancy of Theileria annulata and the first molecular detection of Ehrlichia minasensis in Turkey. Veterinary Research Communications. 2023 Dec. doi: 10.1007/s11259-023-10266-z.
- 12. Eloiza May Galon, Adrian Miki Macalanda, Tatsuki Sugi, Kyoko Hayashida, Naoko

- Kawai, Taishi Kidaka, Rochelle Haidee Ybañez, Paul Franck Adjou Moumouni, Aaron Edmond Ringo, Hang Li, Shengwei Ji, Junya Yamagishi, Adrian Ybañez, Xuenan Xuan*, Bovine Piroplasma Populations in the Philippines Characterized Using Targeted Amplicon Deep Sequencing. Microorganisms. 2023 Oct; 11(10): 2584. doi: 10.3390/microorganisms11102584.
- 13. Oriel Thekisoe, Tsepo Ramatla, Aron Ringo, Sifiso Mnisi, Nthabiseng Mphuthi, Lehlohonolo Mofokeng, Kgaugelo Lekota, <u>Xuenan Xuan*</u>, Molecular detection of *Rickettsia africae* from *Amblyomma hebraeum* ticks in Mafikeng city of North West Province, South Africa. Research in Veterinary Science. 2023 Nov; 164: 105027. doi: 10.1016/j. rvsc.2023.105027.
- 14. Zhuowei Ma, Onur Ceylan, Eloiza May Galon, Uday Kumar Mohanta, Shengwei Ji, Hang Li, Thanh Thom Do, Rika Umemiya-Shirafuji, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Iqra Zafar, Mingming Liu, Ferda Sevinc, <u>Xuenan Xuan*</u>, Molecular Identification of Piroplasmids in Ticks from Infested Small Ruminants in Konya Province, Turkey. Pathogens. 2023 Sep; 12(9): 1123. doi: 10.3390/pathogens12091123.
- 15. Paul Franck Adjou Moumouni, Eloiza May Galon, Maria Agnes Tumwebaze, Benedicto Byamukama, Ruttayaporn Ngasaman, Saruda Tiwananthagorn, Ketsarin Kamyingkird, Tawin Inpankaew, <u>Xuenan Xuan*</u>, Tick-borne Pathogen Detection and Its Association with Alterations in Packed Cell Volume of Dairy Cattle in Thailand. **Animals (Basel).** 2023 Sep; 13(18): 2844. doi: 10.3390/ani13182844.
- 16. Ferda Sevinc, Mo Zhou, Shinuo Cao, Onur Ceylan, Mehmet Can Ulucesme, Sezayi Ozubek, Munir Aktas, <u>Xuenan Xuan*</u>, *Babesia ovis* secreted antigen-1 is a diagnostic marker during the active *Babesia ovis* infections in sheep. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2023 Aug; 13: 1238369. doi: 10.3389/fcimb.2023. 1238369.
- 17. Junya Yamagishi, Onur Ceylan, <u>Xuenan Xuan</u>, Ferda Sevinc, Whole genome sequence and diversity in multigene families of *Babesia ovis*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.** 2023 Aug; 13: 1194608. doi: 10.3389/fcimb.2023. 1194608.
- 18. Rika Umemiya-Shirafuji, <u>Xuenan Xuan</u>, Kozo Fujisaki, Junya Yamagishi, Draft genome sequence data of *Haemaphysalis longicornis* Oita strain. **Data in Brief.** 2023 Jun; 49: 109352. doi: 10.1016/j.dib.2023.109352.
- 19. Uday Kumar Mohanta, Boniface Chikufenji, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Zhuowei Ma, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Moaz M Amer, Thanh Thom Do, Xuenan Xuan*, Molecular characterization and phylogeny of Anaplasma marginale, A. phagocytophilum and A. bovis in livestock of Bangladesh. Parasitology International. 2023 Dec: 97: 102790. doi: 10.1016/j.parint.2023.102790.
- 20. Iqra Zafar, Tomoyo Taniguchi, Hanadi B Baghdadi, Daisuke Kondoh, Mohamed Abdo

- Rizk, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Thom Do, Hang Li, Moaz M Amer, Ma Zhuowei, Ma Yihong, Jinlin Zhou, Noboru Inoue, <u>Xuenan Xuan*</u>, *Babesia microti* alleviates disease manifestations caused by *Plasmodium berghei* ANKA in murine co-infection model of complicated malaria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.** 2023 Jul; 13: 1226088. doi: 10.3389/fcimb.2023.1226088.
- 21. Rikako Konishi, Kayoko Fukuda, Sayuri Kuriyama, Tatsunori Masatani, Xuenan Xuan, Akikazu Fujita, Unique asymmetric distribution of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in *Toxoplasma gondii* revealed by nanoscale analysis. Histochemistry and Cell Biology. 2023 Oct; 160(4): 279-291. doi: 10.1007/s00418-023-02218-0.
- 22. Qin Liu, Xing-Ai Guan, Dong-Fang Li, Ya-Xin Zheng, Sen Wang, Xuenan Xuan, Jun-Long Zhao, Lan He, *Babesia gibsoni* Whole-Genome Sequencing, Assembling, Annotation, and Comparative Analysis. Microbiology Spectrum. 2023 Aug; 11(4): e0072123. doi: 10.1128/spectrum.00721-23.
- 23. Hang Li, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Iqra Zafar, Zhuowei Ma, Thom Do, Moaz M Amer, Yihong Ma, Mingming Liu, Xuenan Xuan*, In vitro screening of compounds from the Food and Drug Administration-approved library identifies anti-Babesia gibsoni activity of idarubicin hydrochloride and vorinostat. Parasitology International. 2023 Oct; 96: 102774. doi: 10.1016/j.parint.2023.102774.
- 24. Uday Kumar Mohanta, Boniface Chikufenji, Eloiza May Galon, Shengwei Ji, Zhuowei Ma, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Aaron Edmond Ringo, Thanh Thom Do, Xuenan Xuan*, Molecular Detection and Phylogenetic Analyses of Babesia spp. and Theileria spp. in Livestock in Bangladesh. Microorganisms. 2023 Jun; 11(6): 1563. doi: 10.3390/microorganisms11061563.
- 25. Afraa Elata, Eloiza May Galon, Paul Franck Adjou Moumouni, Rochelle Haidee D Ybanez, Ehab Mossaad, Caro B Salces, Gundolino P Bajenting, Adrian P Ybanez, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, Keisuke Suganuma, Molecular Detection of Animal Trypanosomes in Different Animal Species in the Visayas Region of the Philippines. Acta Parasitologica. 2023 Sep; 68(3): 604-611. doi: 10.1007/s11686-023-00696-9.
- 26. Liang Shen, Chunhua Wang, Ruilin Wang, Xue Hu, Shiying Liao, Wentong Liu, Aoling Du, Shengwei Ji, Eloiza May Galon, Hang Li, <u>Xuenan Xuan</u>, Juan Xiao, Mingming Liu, Serum metabolomic profiles in BALB/c mice induced by *Babesia microti* infection. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2023 Apr; 13: 1179967. doi: 10.3389/fcimb.2023. 1179967.
- 27. Mo Zhou, Jun Xie, Osamu Kawase, Yoshifumi Nishikawa, Shengwei Ji, Shanyuan Zhu, Shinuo Cao, Xuenan Xuan*, Characterization of anti-erythrocyte and anti-platelet antibodies in hemolytic anemia and thrombocytopenia induced by *Plasmodium* spp.

- and *Babesia* spp. infection in mice. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.** 2023 Apr; 13: 1143138. doi: 10.3389/fcimb.2023.1143138.
- 28. Zhengmao Xu, Yanan Wang, Meng Sun, Yongzhi Zhou, Jie Cao, Houshuang Zhang, Xuenan Xuan, Jinlin Zhou, Proteomic analysis of extracellular vesicles from tick hemolymph and uptake of extracellular vesicles by salivary glands and ovary cells. Parasites & Vectors. 2023 Apr; 16(1): 125. doi: 10.1186/s13071-023-05753-w.
- 29. 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 May; 241: 106890. doi: 10.1016/j.actatropica.2023.106890.
- 30. 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 Apr; 109: 105409. doi: 10.1016/j.meegid.2023.105409.

総説

- Clara-Lee Van Wyk, Senzo Mtshali, Tsepo Ramatla, Kgaugelo E Lekota, <u>Xuenan</u> <u>Xuan</u>, Oriel Thekisoe, Distribution of Rhipicephalus sanguineus and Heamaphysalis elliptica dog ticks and pathogens they are carrying: A systematic revie. <u>Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports</u>. 2024 Jan; 47: 100969. Doi: 10.1016/j.vprsr.2023.100969.
- El-Sayed El-Alfy, Ibrahim Abbas, Somaya Saleh, Rana Elseadawy, Ragab M
 Fereig, Mohamed Abdo Rizk, <u>Xuenan Xuan*</u>, Tick-borne pathogens in camels: A
 systematic review and meta-analysis of the prevalence in dromedaries. <u>Ticks and</u>
 <u>Tick-borne Diseases</u>. 2024 Jan; 15: 102268, doi: 10.1016/j.ttbdis.2023.102268.

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 5 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 5 年度 日中二国間共同研究事業(農林水産省)、マダ二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 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
- 4. 令和 5 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
- 5. 令和 5 年度 特別研究員奨励費(文部科学省)、バングラデシュにおける家畜のマダニ媒介原 虫病のゲノム疫学調査と制御対策の構築、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

- 1. GALON May Eloiza, 第 14 回日本獣医寄生虫学会奨励賞(令和 5 年度)
- 2. JI Shenwei, 第14回日本獣医寄生虫学会奨励賞(令和5年度)

12. 報道等

該当なし

- 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 達謄: 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. 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)
- 4. 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)
- 5. 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~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. 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~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. 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二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)
- 8. 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二媒介原虫病の制 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)

地球規模感染症学分野

◆-------准教授 麻 田 正 仁 (Masahito Asada)

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となっていません。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立すると共に、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
- 偶蹄類マラリアを始めとする住血原虫病の疫学及び病原性の解明

3. 2023 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、ウシに致死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-1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)について機能解析を行いました。SBP1~4のうち、SBP3 について解析を行ったところ、 SBP3 が感染赤血球の Ridge に局在することが明らかとなり、SBP3 をノックダウンすると、原虫の増殖が有意に低下したほか、Ridge がほとんど形成されなくなることが明らかになりました。さらに、VESA-1の感染赤血球側への局在が観察されなくなり、ウシ脳毛細血管内皮細胞への感染赤血球の接着が有意に減少することが明らかになりました(Fathi ら、MAM2024)。
- ・ チェコ科学アカデミーの研究者グループとの共同研究により、B. divergens の遺伝子組換え 法の確立を行いました(論文リスト 1)。共同研究の実施に伴い、チェコ側の研究者の帯広訪問、 日本側の研究者のチェコ訪問が実施されました。
- ・ 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。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、ヤギのマラリアが一部の *Anopheles* 属の蚊によって媒介されることを示唆す

る結果を得ました(論文リスト 6)。また、マラリア原虫に近縁のコウモリの住血原虫である Polychromophilus のミトコンドリアゲノム配列を決定し、マラリア原虫と比較解析を行いました(論文リスト 2)。さらに、ネパール・トリブバン大学の Kishor Pandey 博士から共同研究 の依頼があったため、ネパールのウシの住血原虫感染状況について調査を行い、各種ピロプラズマ原虫 DNA を検出しました(論文リスト 3)。

・ その他、JRA 競走馬総合研究所や北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所の研究者らと共に B. caballi のゲノムを明らかにしました(論文リスト4)。

4. 学会等の活動状況

- ① 所属学会等、役職等
- 日本寄生虫学会評議員・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 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, 2023 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. 2023 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)

- Eliana F G Cubillos, Pavla Snebergerova, Sarka Borsodi, Dominika Reichensdorferova, Viktoriya Levytska, <u>Masahito Asada</u>, Daniel Sojka, Marie Jalovecka, Establishment of a stable transfection and gene targeting system in *Babesia divergens*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2023 Dec: 13: 1278041. doi: 10.3389/ fcimb.2023.1278041.
- 2. Juthathip Poofery, Thongchai Ngamprasertwong, Duriyang Narapakdeesakul, Apinya Arnuphapprasert, Yudhi Ratna Nugraheni, Suchansa Thanee, Masahito Asada, Osamu Kaneko, Morakot Kaewthamasorn, Complete mitochondrial genome analyses confirm that bat *Polychromophilus* and ungulate *Plasmodium* constitute a distinct clade independent of other *Plasmodium* species. **Scientific Reports.** 2023 Nov; 13(1): 20258. doi: 10.1038/s41598-023-45551-z.
- 3. Medhavi Dhakal, Tulsi Ram Gompo, Prakash Devkota, Sharmila Chapagain Kafle,

Janak Raj Subedi, Haiyan Gong, Hiroaki Arima, Richard Culleton, <u>Masahito Asada</u>, Kishor Pandey, Molecular Detection and Identification of Piroplasm in Cattle from Kathmandu Valley, Nepal. **Pathogens.** 2023 Aug; 12(8): 1045. doi: 10.3390/pathogens 12081045.

- 4. Akihiro Ochi, Taishi Kidaka, Hassan Hakimi, <u>Masahito Asada</u>, Junya Yamagishi, Chromosome-level genome assembly of *Babesia caballi* reveals diversity of multigene families among *Babesia* species. **BMC Genomics.** 2023 Aug; 24(1): 483. doi: 10.1186/s12864-023-09540-w.
- Yuho Watanabe, <u>Masahito Asada</u>, Mayu Inokuchi, Maho Kotake, Tomoyoshi Yoshinaga, Target Protein Expression on *Tetrahymena thermophila* Cell Surface Using the Signal Peptide and GPI Anchor Sequences of the Immobilization Antigen of *Cryptocaryon irritans*. *Molecular Biotechnology*. 2023 Jul. doi: 10.1007/s12033-023-00824-w.
- Anh Hoang Lan Nguyen, Yudhi Ratna Nugraheni, Trang Thuy Nguyen, Aung Aung, Duriyang Narapakdeesakul, Winai Kaewlamun, <u>Masahito Asada</u>*, Morakot Kaewthamasorn*, Molecular characterization of anopheline mosquitoes from the goat malaria-endemic areas of Thailand. <u>Medical and Veterinary Entomology.</u> 2023 Jun; 37(2): 381-395. doi: 10.1111/mve.12638.

総説

該当無し

著書

1. 獣医公衆衛生学(獣医公衆衛生学教育研修協議会編)文永堂出版 2024 年 3 月. リーシュマニア 症、バベシア症を分担執筆

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. リーシュマニア症. 長崎大学熱帯医学研究所 熱帯医学研修課程 2023 年 4 月

8. 招待講演等

1. 麻田 正仁, バベシア原虫赤血球修飾分子の同定と機能解析. 第96回日本生化学会大会シンポジウム「多様な病原体研究が生み出す 新たな生化学領域」講演 2023年11月

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 ビ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. 人獣共通感染症国際共同研究所一般共同研究、ヒト赤血球馴化 Babesia bovis を用いたバベシ ア宿主域決定因子の解明、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

- 1. Daniel Sojka; Institute of Parasitology, Biology Centre CAS: DiCre Babesia lineages to study essential aspartyl peptidases、2023年4月1日~2024年3月31日、2023年度原虫病研究センター共同研究
- 2. Kishor Pandey, Tribhuvan University: Molecular characterization and genetic diversity of tick-borne diseases in Nepal、2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 年度原虫病 研究センター共同研究
- 3. 石﨑 隆弘, ウメオ大学分子感染医学研究所/酪農学園大学: ウシバベシア原虫赤内期必須遺伝 子の同定に向けた次世代型 CRISPR スクリーニング基盤の構築、2023 年 4 月 1 日~2024 年 3 月 31 日、2023 年度原虫病研究センター共同研究

国際協力分野

◆------教授 河 津 信 一 郎 (Shin-ichiro Kawazu)

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、これら原虫病の対策に繋がる生命の仕組みや分子が見つかることを期待しています。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二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. 2023 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います。そこで私達は、ピロプラズマ原虫においてゲノム改変技術の基盤を確立して、その技術を活用して同原虫の発育機構をライブイメージングによって明らかにることを目的に研究を行っています。昨年度に引き続き、バベシア・オバタにおいて、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、マダニ体内での発育ステージ(Tick stage)で発現が亢進する遺伝子群の同定を進めました。赤血球内での発育ステージ(Blood

stage) との比較 RNA シーケンス(RNA-seq)にて同定した Tick stage 細胞表在性と推定される蛋白質をコードする 14 遺伝子を対象に定量 RT-PCR による再検証を行い、うち 5 遺伝子について Tick stage における発現亢進を確認しました。また、分化を誘導 12 時間のタイミングにおいて、雄性生殖体からの鞭毛放出(exflagellation)と思われる現象を観察することにも成功しました。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、バベシア原虫でのゲノム機能解析(Functional genomics)で必須となる遺伝子改変技術の開発研究では、バベシア・オバタへの遺伝子導入において、新規マーカー(ブラストサイジン S デアミナーゼ)の有用性を確認いたしました。

・ 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います。また、住血吸虫症対策の基本となる プラジカンテル (PZQ) による集団投薬 (MDA) の効率的な運用に関連した基礎研究も行って います。今年度は、マンソン住血吸虫において PZQ が transient receptor potential (TRP)チ ャネルを活性化することを明らかにした先行研究を踏まえて、このチャネル遺伝子 (Smp 246790.5)の日本住血吸虫におけるオーソログ(EWB00 008853)について発現プ ロファイルの解析を行いました。その結果、このチャネル分子がオス成虫の虫体全体の柔組織 において強く発現し、一方、メス成虫においては顕著な発現が観察されないことが解りました。 加えて、このチャネルは虫卵の卵殻とその内部のミラシジアで発現していることも観察されま したが、中間宿主貝での発育ステージ(スポロシスト)ではその発現が確認できませんでした。 この研究で得られた成績は、住血吸虫の PZQ に対する感受性の性差や発育ステージ間での差 を示した先行研究の成績に矛盾しないものでありました。一連の研究成績を、住血吸虫症の elimination に向けた基礎研究の知見として、専門誌に公表いたしました(原著論文リスト3)。 PZQ の作用機序が明らかになることで、新規の抗寄生虫薬の創薬研究の進展が期待できます。

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

・ 令和5(2023)年度研究拠点形成事業「アジア型住血吸虫症の排除に向けた南南・三角協力拠

点の構築」のキックオフミーティング(令和 5 年 10 月 24-27 日、帯広畜産大学原虫病研究センターPK-Hall 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 運営員会委員
- 日米医学協力計画寄生虫疾患部会パネル

6. 2023 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, Kennedy M Mochabo, Judith K Chemuliti, Kiyoshi Kita, Noboru Inoue, **Shin-Ichiro Kawazu**, Ascofuranone antibiotic is a promising trypanocidal drug for nagana. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research.** 2024 Feb; 91(1): e1-e6. doi: 10.4102/ojvr.v91i1.2115.
- Adrian Miki C Macalanda, Eloiza May S Galon, Vernadyn A Morillo, Atcharaphan Wanlop, Kevin Austin L Ona, Xuenan Xuan, Noboru Inoue, <u>Shin-Ichiro Kawazu</u>, Keisuke Suganuma, Molecular detection and internal transcribed spacer-1 sequence diversity of *Trypanosoma evansi* in goats from Cavite, Philippines. **Journal of Veterinary Medical Science.** 2024 Jan; 86(1): 35-38. doi: 10.1292/jyms.23-0416.
- Kaho Shinozaki, Masashi Kirinoki, Atcharaphan Wanlop, Kenichi Watanabe, Yuma Ohari, Saki Suguta, Kevin Austin L Ona, Naoko Ushio, Adrian Miki C Macalanda, Keisuke Suganuma, Noboru Inoue, Shin-Ichiro Kawazu, Expression profile analysis of the transient receptor potential (TRPM) channel, a possible target of praziquantel in Schistosoma japonicum. Parasitology International. 2023 Dec; 99: 102833. doi: 10.1016/j.parint.2023.102833.
- 4. Ai Yamazaki, Keisuke Suganuma, Yusuke Tanaka, Kenichi Watanabe, <u>Shin-Ichiro</u> <u>Kawazu</u>, Kiyoshi Kita, Noboru Inoue, Efficacy of oral administration of ascofuranone with and without glycerol against *Trypanosoma congolense*. **Experimental Parasitology.** 2023 Sep; 252: 108588. doi: 10.1016/j.exppara.2023.108588.
- Yujon Hong, Keisuke Suganuma, Yuma Ohari, Mitsunori Kayano, Kenji Nakazaki, Shinya Fukumoto, <u>Shin-Ichiro Kawazu</u>, Noboru Inoue, Seasonal Variation and Factors Affecting *Trypanosoma theileri* Infection in Wild Sika Deer (Ezo Sika Deer *Cervus nippon yesoensis*) in Eastern Hokkaido. **Animals (Basel)**. 2023 May; 13(10): 1707. doi: 10.3390/ani13101707.

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. 該当なし

9. 獲得研究費

- 1. 令和 5 年度 国際共同研究加速基金(海外連携研究)(文部科学省)、ワンヘルス・アプローチに基づく日本住血吸虫症対策の創出を目指した研究(23KK0125)、代表、令和 5 年度~令和 9 年度
- 2. 令和 5 年度 科学研究費助成事業(特別研究員奨励費)(日本学術振興会)、日本住血吸虫症の SE 抗原診断法開発に向けた網羅的バイオマーカー探索研究(23KF0131)、代表、令和 5 年度~令和 6 年度
- 3. 令和 5 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)、アジア型住血吸虫症の排除に向けた南南・三角協力拠点の構築(JPJSCCB20230008)、代表、令和 5 年度~令和 7 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 令和6年3月11日 顧みられない熱帯病の診断法を開発 河津信一郎教授に聞く【ちくだい×SDGs(19)】

- 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 Ssciences, 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、2023年7月~2026年6月(2023年7月に延長)、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、ヒストン修飾酵素阻害剤によるマラリア原虫増殖阻害とその分子基盤の解明、2023年4月1日~2024年3月31日、2021年度原虫病研究センター共同研究(2023-共同-10)