

文部科学省認定 共同利用・共同研究拠点
WOAHコラボレーティングセンター

原虫病研究センター 年報

NRCPD 2024 | 令和6年度



Obihiro University of Agriculture
and Veterinary Medicine

National Research Center
for Protozoan Diseases

WOAH collaborating centre for surveillance
and control of animal protozoan diseases

目 次

1. センターの概要	1
①沿革	1
②設置目的等	2
2. 組織等	3
①教員数	3
②技術系職員数	3
③事務系職員数	3
④組織図	4
⑤原虫病研究センター運営委員会委員	5
3. 予算、決算、外部資金等	6
①歳出決算額	6
②研究費総額、研究者 1 人当たりの研究費	6
③科学研究費等の採択状況	7
④その他の外部資金獲得状況	8
4. 研究活動	9
①共同利用・共同研究の実施件数（進行中のものも含む）	9
②共同研究課題採択一覧	9
③共同利用・共同研究の参加状況	11
④学会誌、学術雑誌、国際会議等に掲載された論文数	11
⑤出版物の発行号数	12
⑥受賞状況	12
⑦研究者を対象とした研究会、シンポジウム等の実施状況	12
5. 国際交流状況	13
①国際シンポジウム等の主催・参加状況	13
②国際学術交流協定の状況	14
③国際的な研究プロジェクトへの参加状況	15
④研究者の海外派遣状況・外国人研究者の招へい状況（延べ人数）	20
⑤その他・国際研究協力活動の状況	20
6. 教育活動・人材養成	21
①大学院生等の受入状況	21
②留学生の受入状況	21

③本センターを利用して学位を取得した大学院学生数	21	
④本センターを利用して学位を取得した大学院学生一覧	22	
7. 情報発信・広報活動等	24	
①研究活動等の公開状況（講演会、公開講座等）	24	
②定期刊行物やホームページ等による一般社会に対する情報発信の取組	25	
8. 教員の研究活動	26	
先端治療学分野	西川 義文 教授	26
	渡邊 奈々子 特任助教	33
	窪田 理恵 特任助教	37
高度診断学分野	横山 直明 教授	40
	白藤 梨可 准教授	48
	岡島 美鈴 助教	54
先端予防治療学分野	井上 昇 教授	55
	菅沼 啓輔 准教授	59
感染病理学分野	五十嵐 慎 教授	64
	福本 晋也 准教授	66
地球規模感染症学分野	玄 学南 教授	70
	麻田 正仁 准教授	75
国際協力分野	河津 信一郎 教授	79
9. 共同研究成果報告書	84	
フェロトキシスを標的としたトキソプラズマの新規診断・治療法開発	85	
ウシバベシア原虫細胞内超微細構造を解明するための 反復拡大顕微鏡法 (iU-ExM)の確立	87	
Uncovering tick vectors that transmit zoonotic <i>Babesia</i> species in China	89	
抗トリパノソーム活性物質の動物生体内動態解析・安全性評価に向けた 分析方法の検討	91	
マラリア原虫に対するヒストン化学修飾化合物の薬剤評価系の確立	94	
Isolation of <i>Babesia bovis</i> of Thai origin and characterization of the VESA gene family encoding its virulent factors	97	
Establishment of DiCre parasite lineages to study essential aspartyl peptidases of <i>Babesia</i>	99	
新規ゲノム編集 CRISPR/Cas3 系によるトキソプラズマの ゲノム"ごそと"欠損方法の開発	103	
ハダニの卵黄形成における光周性の分子機構	105	

ヒメダニ科 <i>Ornithodoros moubata</i> の人口吸血法による 回帰熱ボレリア <i>Borrelia duttonii</i> 感染実験系の樹立	107
抗アピコンプレクサ剤の分子標的における <i>in vitro</i> 再構成系 および創薬基盤の創世	110
Molecular detection and genotyping of <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp and <i>Giardia duodenalis</i> in domestic animals and wildlife in Thailand	113
Identification of tick vectors, including novel and genotype-specific species, that transmit <i>Theileria equi</i> and <i>Babesia caballi</i>	116
トキソプラズマの保有する 2 つのアクアポリン分子が関与する 病原性発現機構	118
マラリア原虫 <i>Brca2</i> のスポロゾイト形成における機能の解明	120
マラリア原虫オーシスト形成・分化に関する分子機構の解明： 壁構成蛋白質の深索から	122
Molecular detection of tick-borne pathogens in Cattle from Kathmandu, Nepal	125
北海道における海獣由来トキソプラズマの単離培養法の確立と全ゲノム解析	128
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	130

1. センターの概要

①沿革

I. 原虫病細胞免疫研究室（1984-1990）

1984年 4月 特別施設として「原虫病細胞免疫研究室」が家畜生理学講座（鈴木直義教授）内に新設（原虫病研究センターの前身）

II. 原虫病分子免疫研究センター（1990-2000）

1990年 6月 文部省令による学内共同教育研究施設（2000年3月31日までの時限施設）として原虫病分子免疫研究センター設置、分子免疫学分野新設

1992年 4月 細胞病態生理学分野（客員研究分野）新設

1993年 6月 研究棟新設（462 m²）、特殊実験動物室（P1～P3 安全基準完備室）、原虫病原株大量保存室設置

1995年 4月 耐病性遺伝子工学分野新設

1997年 4月 節足動物衛生工学分野新設

1997年 11月 研究棟増設（970 m²）

III. 原虫病研究センター（2000～現在）

2000年 4月 全国共同利用施設として原虫病研究センター設立、先端予防治療学分野と高度診断学分野の新設

2002年 3月 研究棟増設（1,730 m²）

2002年 10月 「21世紀 COE プログラム」に選定

2003年 4月 特定疾病分野、食品有害微生物分野、大動物巡回臨床分野の新設

2005年 4月 原虫進化生物学分野、遺伝生化学分野、国際獣疫学分野の新設

2006年 3月 研究棟増設（1,520 m²）

2007年 6月 WOAH（国際獣疫事務局）リファレンスラボラトリー（ウシバベシア病およびウマピロプラズマ病：五十嵐 郁男、スーラ病：井上 昇）に認定

2008年 5月 WOAH コラボレーティングセンターに認定（原虫病分野では世界初）

2009年 6月 共同利用・共同研究拠点「原虫病制圧に向けた国際的共同研究拠点」に選定

2012年 11月 寄付講座「生命平衡科学講座（白寿）」を開設

2013年 3月 テニユアトラック普及・定着事業による地球規模感染症学分野の新設

2016年 4月 共同利用・共同研究拠点「原虫病制圧に向けた国際的共同研究拠点」に再認定

2017年 3月 WOAH リファレンスラボラトリーにて、国際規格 ISO/IEC 17025 : 2005 認定を取得

2018年 1月 WOAH/ISO 業務担当分野として、国際獣疫分野新設

2022年 4月 共同利用・共同研究拠点「原虫病制圧に向けた国際的共同研究拠点」に再認定

2022年 4月 創薬研究部門先端治療学分野新設

②設置目的等

大 学 名	国立大学法人北海道国立大学機構 帯広畜産大学
研 究 所 等 名	原虫病研究センター
所 在 地	北海道帯広市稲田町西 2 線 13 番地
設 置 目 的	我が国唯一の家畜原虫病に関する研究拠点として、海外の大学や国際獣疫事務局（WOAH）等の国際機関ならびに関連省庁との研究連携により、人獣共通感染症としての原虫病の制圧と家畜生産性向上によるタンパク質資源の確保に努め、我が国は勿論、地球規模での人類の健康福祉と安全な動物性食品の安定供給に対して学術的貢献をなし得る、原虫病と蚊やマダニ等の媒介節足動物（ベクター）に関する総合的研究を推進する。
研 究 内 容	共同利用・共同研究拠点である原虫病研究センターの活動を中核に、WOAH コラボレーティングセンターとしての国際防疫活動、国際協力機構（JICA）との連携事業、ならびに日本学術振興会（JSPS）拠点形成事業等の大型プロジェクトにより構築した研究者ネットワークを活用して、1) 原虫病の診断、治療、予防とベクター対策に関する先端研究の推進、2)原虫病とベクターの制圧及び監視体制構築による国際防疫上の学術貢献、3) 世界の原虫病及びベクター対策を牽引する若手研究者及び専門家の育成を推進する。
責 任 者	センター長 井上 昇
共同利用・共同研究拠点施設名	原虫病研究センター
拠 点 の 名 称	原虫病制圧に向けた国際的共同研究拠点

2. 組織等

①教員数

	教 員 数 (単位：人)					
	令和6年度 (R07.3.31 現在)					
	現 員 数	任期制導入状況				
		女 性 数	外 国 人 数	任 期 付 教 員 数	女 性 数	外 国 人 数
教 授	6	0	1	1	0	1
准教授	4	1	0	0	0	0
講 師	0	0	0	0	0	0
助 教	1	1	0	1	1	0
特任助教	2	2	0	2	2	0
合 計	13	4	1	4	3	1

②技術系職員数

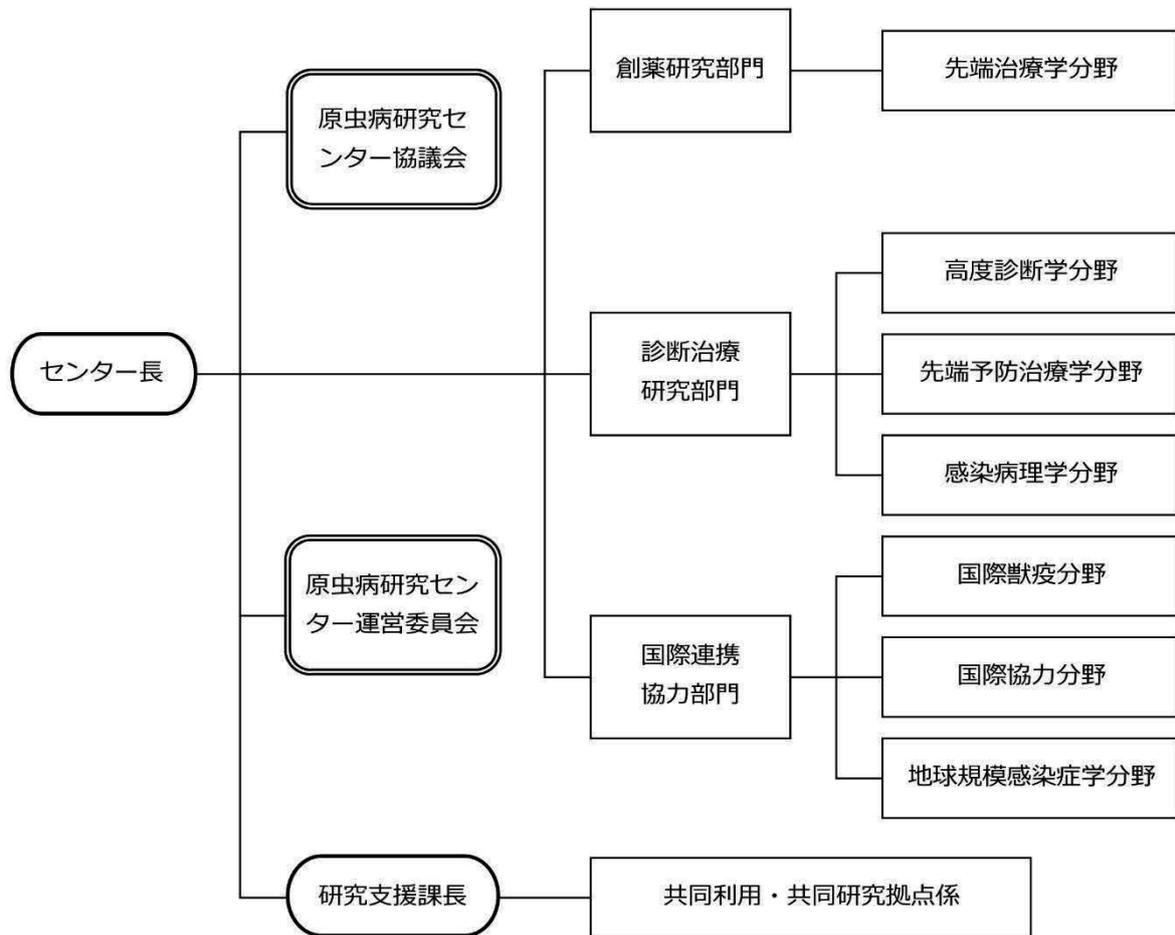
区 分	令和6年度 (人)
技術系職員数	10
うち常勤	2
うち非常勤	8

③事務系職員数

区 分	令和6年度 (人)
事務系職員数	5
うち常勤	1
うち非常勤	4

④組織図

【令和6年度】



⑤原虫病研究センター運営委員会委員

氏 名	所 属 機 関 名	役 職	備 考
狩野 繁之	国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所	熱帯医学・マラリア研究部長	委員長
川口 寧	国立大学法人東京大学医科学研究所	教授	帯広畜産大学の役員及び職員以外の者で原虫病に関する学識経験者のうちからセンター長の指名する者
釘田 博文	WOAH アジア太平洋地域事務所	代表	
鈴木 定彦	国立大学法人北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所	教授	
野中 成晃	国立大学法人北海道大学大学院獣医学研究院	教授	
Badgar BATTSETSEG	モンゴル国立生命科学大学獣医学研究所	教授	
平山 謙二	国立大学法人長崎大学大学院熱帯医学・グローバルヘルス研究科	教授	
堀井 俊宏	国立大学法人大阪大学微生物病研究所	教授	
堀本 泰介	国立大学法人東京大学大学院農学生命科学研究科	教授	
井上 昇	原虫病研究センター	教授	センター専任の教授
玄 学南	原虫病研究センター	教授	
河津 信一郎	原虫病研究センター	教授	
五十嵐 慎	原虫病研究センター	教授	
横山 直明	原虫病研究センター	教授	
西川 義文	原虫病研究センター	教授	

3. 予算、決算、外部資金等

①歳出決算額

区 分	令和 6 年度（単位：百万円）	
	決算額	うち運営費交付金
人 件 費	159	152
物 件 費	205	26
計	364	178

②研究費総額、研究者 1 人当たりの研究費

	教員数 (a)	研究費総額(外部資金を含む) (b)	研究費総額(外部資金を除く) (c)	教員 1 人当たりの研究費(外部資金を含む) (b)/(a)	教員 1 人当たりの研究費(外部資金を除く) (c)/(a)
令和 6 年度 (単位：百万円)	13	365	201	28.1	15.5

③科学研究費等の採択状況

研究種目	研究課題番号	新規 継続	職名・代表者	金額 (直接経費) (単位：千円)
基盤研究(B)	21H02353	継続	教授・西川 義文	3,200
基盤研究(B)	22H02509	継続	教授・玄 学南	3,900
基盤研究(B)	22H02510	継続	准教授・福本 晋也	3,800
基盤研究(B)	22H02511	継続	教授・横山 直明	3,900
基盤研究(B)	22H02512	継続	准教授・白藤 梨可	3,700
基盤研究(B)	23H02377	継続	教授・井上 昇	3,500
基盤研究(C)	22K05982	継続	准教授・麻田 正仁	900
挑戦的研究(萌芽)	23K18071	継続	教授・西川 義文	1,500
国際共同研究強化(B)	20KK0152	継続	教授・西川 義文	2,900
国際共同研究強化(B)	21KK0121	継続	准教授・麻田 正仁	4,200
国際共同研究強化(B)	22KK0095	継続	教授・横山 直明	5,200
海外連携研究	23KK0125	継続	教授・河津 信一郎	4,000
特別研究員奨励費	22KF0019	継続	特任研究員・ GUSWANTO	500
特別研究員奨励費	23KJ0074	継続	大学院生・ DO THANH THOM	1,000
特別研究員奨励費	23KF0131	継続	特任研究員・ MACALANDA ADRIAN MIKI	1,000
海外連携研究	24KK0135	新規	准教授・福本 晋也	1,100
挑戦的研究(萌芽)	24K21907	新規	教授・河津 信一郎	1,600
学術変革領域研究(A)	24H02292	新規	教授・西川 義文	19,100
若手研究	24K18011	新規	特任助教・潮 奈々子	1,600

④ その他の外部資金獲得状況

予算種目	事業名等	新規 継続	職名・代表者	金額 (直接経費) (単位：千円)
国立研究開発法人 日本医療研究開発 機構	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	継続	教授・西川 義文	1,300
国立研究開発法人 日本医療研究開発 機構	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)	継続	教授・横山 直明	7,000
農林水産省	日中二国間共同 研究事業	継続	教授・玄 学南	3,452
国立大学法人北海 道大学	卓越大学院プロ グラム	継続	教授・西川 義文	1,800
独立行政法人日本 学術振興会	研究拠点形成事 業(アジア・アフ リカ学術基盤形 成型)	継続	教授・河津 信一郎	5,960
独立行政法人日本 学術振興会	二国間交流事業 共同研究(スリラ ンカ)	新規	教授・横山 直明	2,000
公益財団法人秋山 記念生命科学振興 財団	秋山記念生命科 学振興財団研究 助成	新規	特任助教・窪田 理恵	600
公益財団法人シオ ノギ感染症研究振 興財団	シオノギ感染症 研究振興財団次 世代育成支援研 究助成金	新規	准教授・菅沼 啓輔	3,000
一般社団法人日本 競走馬協会	日本競走馬協会 研究助成	新規	准教授・菅沼 啓輔	2,700
一般財団法人下 大下財団	大下財団研究助 成	新規	准教授・菅沼 啓輔	1,000
(株)白寿生科学研 究所	寄附講座	継続	教授・井上 昇	4,000
A(株)	共同研究	継続	准教授・菅沼 啓輔	1,300
B(株)	共同研究	新規	准教授・白藤 梨可	1,500
C(株)	寄付金	新規	准教授・菅沼 啓輔	270

4. 研究活動

① 共同利用・共同研究の実施件数（進行中のものも含む）

共同利用・共同研究数（単位：件）	19
うち国際的な共同利用・共同研究数	6
うち共同利用・共同研究拠点としての実施件数	6
うち国内での共同利用・共同研究数	13
うち共同利用・共同研究拠点としての実施件数	13

② 共同研究課題採択一覧

研究代表者	研究課題名（19件）	センター内共同研究者
兼子 裕規	フェロトーチスを標的としたトキソプラズマの新規診断・治療法開発	西川 義文
石崎 隆弘	ウシバベシア原虫細胞内超微細構造を解明するための反復拡大顕微鏡法（iU-ExM）の確立	麻田 正仁
Liqing Ma	Uncovering tick vectors that transmit zoonotic <i>Babesia</i> species in China	横山 直明
村田 敏拓	抗トリパノソーマ活性物質の動物生体内動態解析・安全性評価に向けた分析方法の検討	菅沼 啓輔
荒木 球沙	マラリア原虫に対するヒストン化学修飾化合物の薬剤評価系の確立	河津信一郎
Apinya ARNUPHAPPRASERT	Isolation of <i>Babesia bovis</i> of Thai origin and characterization of the VESA gene family encoding its virulent factors	麻田 正仁
Daniel Sojka	Establishment of DiCre parasite lineages to study essential aspartyl peptidases of <i>Babesia</i>	河津信一郎 麻田 正仁
杉 達紀	新規ゲノム編集 CRISPR/Cas3 系によるトキソプラズマのゲノム"ごそっと"欠損方法の開発	西川 義文
鈴木 丈詞	ハダニの卵黄形成における光周性の分子機構	白藤 梨可
佐藤 梢	ヒメダニ科 <i>Ornithodoros moubata</i> の人口吸血法による回帰熱ボレリア <i>Borrelia duttonii</i> 感染実験系の樹立	白藤 梨可
二瓶 浩一	抗アピコンプレクサ剤の分子標的における <i>in vitro</i> 再構成系および創薬基盤の創世	西川 義文

Ruenruetai Udonsom	Molecular detection and genotyping of <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp and <i>Giardia duodenalis</i> in domestic animals and wildlife in Thailand	西川 義文
Berdikulov Atabek	Identification of tick vectors, including novel and genotype genotype-specific species, that transmit <i>Theileria equi</i> and <i>Babesia caballi</i>	横山 直明
正谷 達膳	トキソプラズマの保有する2つのアクアポリン分子が関与する病原性発現機構	玄 学南
吉川 泰永	マラリア原虫 <i>Brca2</i> のスポロゾイト形成における機能の解明	福本 晋也
筏井 宏実	マラリア原虫オーシスト形成・分化に関する分子機構の解明：壁構成蛋白質の深索から	福本 晋也
Kishor Pandey	Molecular detection of tick-borne pathogens in Cattle from Kathmandu, Nepal	麻田 正仁
彦坂 健児	北海道における海獣由来トキソプラズマの単離培養法の確立と全ゲノム解析	福本 晋也
中尾 洋一	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	菅沼 啓輔

③ 共同利用・共同研究の参加状況

区 分	令和6年度（単位：人）								
	機関数	受入人数				延べ人数			
		外国人	若手研究者(35歳以下)	大学院生	外国人	若手研究者(35歳以下)	大学院生		
学内 (法人内)	7	58 (29)	36 (16)	40 (22)	23 (13)	767 (372)	443 (20)	638 (289)	338 (172)
国立大学	10	23 (4)	4 (0)	8 (4)	0 (0)	41 (4)	11 (0)	13 (4)	0 (0)
公立大学	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
私立大学	6	9 (0)	0 (0)	5 (0)	3 (0)	44 (0)	0 (0)	33 (0)	31 (0)
大学共同 利用機関法人	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
独立行政法 人等公的研 究機関	14	31 (13)	0 (0)	11 (10)	0 (0)	72 (24)	0 (0)	22 (21)	0 (0)
民間機関	8	28 (5)	0 (0)	12 (5)	0 (0)	37 (7)	0 (0)	17 (7)	0 (0)
外国機関	18	28 (12)	28 (12)	9 (5)	1 (1)	1231 (157)	1231 (157)	536 (132)	29 (29)
その他	1	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
計	64	178 (63)	68 (28)	85 (46)	27 (14)	2193 (564)	1685 (177)	1259 (453)	398 (201)

※下段には女性研究者数（内数）

④ 学会誌、学術雑誌、国際会議等に掲載された論文数

区 分	令和6年度
論 文 数	58
うち国際学術誌に 掲載された論文数	58

⑤ 出版物の発行号数

出版物の名称	発行号数
The Journal of Protozoology Research	ホームページに掲載

⑥ 受賞状況

受賞者氏名	賞名	受賞年月	受賞対象となった研究課題名等
片山 菜月	第 167 回日本獣医学会学術集会 優秀発表賞	令和 6 年 9 月	ネッタイシマカにおける HT115 大腸菌 dsRNA 発現系を用いた RNAi 法の検討
川野 眞子	第 70 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	令和 6 年 9 月	抗トリパノソーマ活性を持つ新規シート化合物の探索
末永 羅綺	International Meeting on Amebiasis (国際アメーバ会議) 2024 Best Presentation Award	令和 6 年 12 月	<i>Entamoeba invadens</i> infection causes a lethal pathology in juvenile sea turtles
西川 義文	第 94 回日本寄生虫学会において第 72 回小泉賞受賞	令和 7 年 3 月	トキソプラズマ症病態モデルの構築とワクチン開発および創薬研究への応用

⑦ 研究者を対象とした研究会、シンポジウム等の実施状況

シンポジウム 講演会		セミナー・研究会 ワークショップ		その他		合計	
件数	参加人数	件数	参加人数	件数	参加人数	件数	参加人数
1	24	3	62	0	0	4	86

5. 国際交流状況

①国際シンポジウム等の主催・参加状況

(1)主催状況

区 分	令和6年度		
主催件数	1		
主催した主な国際シンポジウム等			
	開催時期	国際シンポジウム等名称	参加人数 (うち外国人数)
1	R6.10.29 ～10.31	令和5(2023)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)【JPJSCCB20230008】「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」第二回国際会議	24 (19)

(2)参加状況

区 分	令和6年度		
参加件数	5		
参加した主な国際シンポジウム等			
	開催時期	国際シンポジウム等名称	参加人数
1	R6.8.31～ 9.9	11th edition of the Tick and Tick-Borne Pathogen Conference (TTP)	1
2	R6.9.16～ 9.22	The 21st International Society for Animal Hygiene Conference	1
3	R6.9.18～ 9.24	第21回熱帯医学・マラリア会議 (ICTMM 2024)	1
4	R7.2.23～ 2.26	8th International Giardia & Cryptosporidium Conference (IGCC)	1
5	R7.3.25～ 3.26	国際バベシア症会議 International Babesiosis meeting	2

②国際学術交流協定の状況

協定総数	13						
締結年月	終了予定年月	相手国	機 関 名	協定名	分 野	受入人数	派遣人数
2008年 11月	2028年 3月	フィリピン	フィリピン大学 マニラ校公衆衛生学部	MOU	原虫病	1	1
2010年 9月	2025年 9月	中国	中国農業科学院 上海獣医学研究所	MOU	原虫病	0	0
2016年 6月	2026年 12月	ブルキナファ ン	ワガドゥーグー 大学	MOU	原虫病	0	0
2017年 6月	2027年 12月	南アフリカ	ノースウェスト 大学	MOU	原虫病	0	0
2019年 6月	2029年 6月	モンゴル	モンゴル獣医学 研究所	MOA	原虫病	4	5
2019年 7月	2026年 10月	フィリピン	フィリピンカラ バオセンター	MOU	原虫病	0	0
2019年 7月	2024年 7月	スリランカ	スリランカ動物 生産健康局	MOU	原虫病	0	0
2019年 10月	2028年 2月	フィリピン	カビテ州立大学	MOU	原虫病	4	0
2021年 10月	2026年 10月	中国	新疆農業大学獣 医学部	MOA	原虫病	3	5
2022年 6月	2027年 6月	フィリピン	ダバオデルスル 州立大学	MOU	原虫病	0	0
2022年 8月	2025年 8月	メキシコ	ケレタロ自治大 学自然科学学部	MOU	原虫病	0	2
2023年 7月	2028年 7月	キルギス	キルギス共和国 獣医科学研究所	MOU	原虫病	1	0
2024年 10月	2029年 10月	中国	青海省獣医学研 究所	MOU	原虫病	0	3
合 計						13	16

③国際的な研究プロジェクトへの参加状況

総 数	9		
参加期間	相手国・研究機関名	研究プロジェクト等の概要	関係研究者名
令和2年度～令和6年度	モンゴル・モンゴル生命科学大学	<p>プロジェクト名：国際共同研究強化（B）・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</p> <p>プロジェクト概要：モンゴルでは様々な家畜感染症が発生しており、家畜疾病に対する予防・対策のニーズは高く、早急な対応が必要となっている。特に家畜における繁殖障害は経済的な損害が大きく、これに関連する病原性原虫としてトキソプラズマの存在が示唆されている。そこで本研究では、モンゴルの重要な家畜資源である小型反芻獣に着目し、トキソプラズマ感染に対する新しいワクチンの開発を目指す。モンゴル由来原虫株を分離し、細胞スクリーニング法による免疫刺激型抗原の同定、プロテオームによる自然感染動物で認識される感染認識抗原の同定を進め、これら抗原を組み合わせたカクテルワクチンの開発を進める。さらに、遺伝子破壊原虫の解析で新規ワクチン抗原の機能を理解し、小型反芻獣への感染実験を通じて新規ワクチンの効果と防御免疫反応の詳細を明らかにする。</p> <p>参加国：日本・モンゴル 予算見込み額：1,450万円</p>	西川 義文
令和3年度～令和6年度	タイ・チュラロンコン大学	<p>プロジェクト名：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</p> <p>プロジェクト概要：スイギュウやヤギのマラリア原虫の病原性や生活環を明らかにするとともに、他の住血微生物との混合感染状況を明らかにする。住血微生物の混合感染状況と症状の解析を行うと共に、微生物間の干渉に焦点を当てた、家畜住血微生物病の新規制御法創出を行う。</p> <p>参加国：日本・タイ 予算見込み額：1,470万円</p>	麻田 正仁

参加期間	相手国・研究機関名	研究プロジェクト等の概要	関係研究者名
令和4年度～令和6年度	モンゴル・モンゴル獣医学研究所	<p>プロジェクト名：国際共同研究強化(B)、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</p> <p>プロジェクト概要：馬ピロプラズマ病に対する現行の血清診断法には致命的な欠陥があることが指摘され、しばしば大きな社会問題を引き起こしている。そこで、モンゴル国で多発している馬ピロプラズマ病の罹患馬を研究対象に、現行の血清診断法の問題点を科学的に実証し、その成果に基づいて新たな馬ピロプラズマ病に対する国際標準血清診断法を開発していく。</p> <p>参加国：日本・モンゴル 予算見込み額：1,540万円</p>	横山 直明
令和5年度～令和9年度	フィリピン・フィリピン大学	<p>プロジェクト名：国際共同研究加速基金(海外連携研究)、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</p> <p>プロジェクト概要：日本住血吸虫症の排除を達成するには、患者の治療及び患者への感染源となる動物(保虫宿主)への対策を並行して行う必要がある。住血吸虫症の治療には特効薬プラジカンテルが用いられ、一般に、この薬による流行地住民への集団治療(MDA)が、この寄生虫病の流行が認められる国と地域での主要な対策になっている。本研究では(1)独自に開発した診断法を応用した住民と動物での有病率の調査及び(2)寄生虫ライフサイクルの推定を目的としたマイクロサテライトマーカーによる多座位の遺伝子型解析(STR/MLG)技術に立脚して、ヒトと動物の双方を対象にした集団治療(One-Health MDA)を寄生虫病対策の現場で試行し評価することを目的とする。</p> <p>参加国：日本・フィリピン 予算見込み額：1,620万円</p>	河津 信一郎

参加期間	相手国・研究機関名	研究プロジェクト等の概要	関係研究者名
令和6年度～令和10年度	パラグアイ・アスンシオン国立大学、パラグアイ農務省国立品質動物衛生局	<p>プロジェクト名：国際共同研究加速基金(海外連携研究)、フィラリアを媒介しない蚊の創出に向けたパラグアイにおける遺伝疫学的研究</p> <p>プロジェクト概要：蚊は病原体の媒介能力がとて高く Top deadliest animal として知られ、人類を最も死に至らしめている生物である。ペットに対しても同様で、一般にフィラリアとして知られるイヌ糸状虫は伴侶動物で最も重要な致死的寄生虫感染症である。本研究ではパラグアイのイヌ糸状虫媒介蚊の遺伝学的解析を通じて、蚊のイヌ糸状虫抵抗性機構に関する知見を得ることで、フィラリアを媒介しない蚊作出のための基礎的知見の入手を目的とする。</p> <p>参加国：日本・パラグアイ 予算見込み額：1,600万円</p>	福本 晋也
令和5年度～令和7年度	インドネシア・インドネシア国立研究改革庁、カンボジア・カンボジア保健省国立マラリアセンター、ラオス・ラオス熱帯医学公衆衛生研究所、フィリピン・フィリピン大学マニラ校	<p>プロジェクト名：JSPS 拠点形成事業－B.アジア・アフリカ学術基盤形成型、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</p> <p>プロジェクト概要：住血吸虫症は世界的に分布する人獣共通感染症で、WHO はこの感染症をNTDs の一つに指定して、そのコントロールを推進している。アジアでは、日本住血吸虫症及びメコン住血吸虫症が、それぞれ、中国・フィリピン・インドネシア及びカンボジア・ラオスの農村や漁村で流行している。住血吸虫症の排除に向けては、患者の治療及び患者への感染源となる動物（保虫宿主対策）への対策を並行して行う必要がある。一方、寄生虫病の高度流行地では患者の特効薬プラジカンテルによる治療が最優先課題になるが、診断法の不備から、この対策を巧く運用できていない。そこで、フィリピン大学との共同研究で開発した診断技術を社会実装するため、フィリピン大学マニラ校公衆衛生学部、フィリピン農業省カラバオセンター、インドネシア国立研究改革庁、カンボジア保健省国立マラリアセンター及びラオス熱帯医学公衆衛生研究所に、アジア型住血吸虫症の排除に向けた高度診断・疫学調査協力拠点を構築する。</p> <p>参加国：日本・インドネシア・カンボジア・ラオス・フィリピン 予算見込み額：1,792万円</p>	河津 信一郎

参加期間	相手国・研究機関名	研究プロジェクト等の概要	関係研究者名
令和6年度～令和7年度	スリランカ・スリランカ獣医学研究所、ペラデニア大学獣医学部	<p>プロジェクト名：JSPS 二国間交流事業、スリランカのロバに感染する馬ピロプラズマの性状解析並びに馬への感染リスク評価</p> <p>プロジェクト概要：我々が2022年に明らかにした「スリランカの野生ロバは馬ピロプラズマ原虫を高率に保有している」の知見を受けて、令和6年度では1)それぞれ原虫種(馬タイレリア (<i>Theileria equi</i>) と馬バベシア (<i>Babesia caballi</i>))のロバ由来野生株を、スリランカで分離・培養を行う。さらに、2)スリランカ国内の飼育馬における馬ピロプラズマの感染状況の把握を行う。令和7年度では3)スリランカで馬ピロプラズマを媒介するマダニ種の同定、4)発症抵抗性を示す野生ロバから高感受性の馬に馬ピロプラズマが伝播し、経済的被害を招くリスク因子の解明を行う。</p> <p>参加国：日本・スリランカ 予算見込み額：400万円</p>	横山 直明
令和2年度～令和6年度	中国・中国農業科学院	<p>プロジェクト名：農林水産省・二国間国際共同研究事業・マダニ媒介原虫制圧に向けた日中共同アプローチ</p> <p>プロジェクト概要：マダニは脊椎動物の血液を唯一の栄養源とする吸血性節足動物であり、ヒトや動物に対し種々の病原体を媒介する。なかでもバベシア原虫とタイレリア原虫はマダニによって媒介される原虫の代表格で、牛・馬・羊など種々の家畜に感染し重篤な貧血をおこし、世界中で家畜生産現場に甚大な被害をもたらしており、特に放牧牛においてこれら原虫感染症がもたらす経済的損害は莫大と推定されている。しかしながら、いまのところ有効な制御方法は確立されていないのが現状である。そこで本研究では、マダニ媒介原虫病の研究においては最先端研究を牽引している日本側の拠点研究機関である原虫病研究センターとマダニのベクターバイオロジー研究で世界を先駆けている中国側の拠点研究機関である上海獣医学研究所で共同研究を実施し、マダニ媒介原虫病の制圧を目指す。</p> <p>参加国：日本・中国 予算見込み額：700万円</p>	玄 学南

参加期間	相手国・研究機関名	研究プロジェクト等の概要	関係研究者名
令和5年度～令和7年度	中国・新疆農業大学獣医学部、青海省獣医学研究所	<p>プロジェクト名：AMED・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）、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</p> <p>プロジェクト概要：中国国内で放牧されている家畜動物（牛、馬、山羊、羊など）から血液をサンプリングし、血液DNAを採取する。また、放牧エリアの牧草等で待機している未吸血のマダニも採取し、マダニ種を形態学的に分類した後に、そのDNAを抽出する。それらの野外サンプルを遺伝学的に解析することで、“中国産家畜動物とマダニに感染している人獣共通感染性を疑う病原体種（原虫と細菌）”を明らかにし、放牧家畜種別、マダニ種別、及び地域別の各種病原体の感染・保有パネルを作成する。さらに、今後の人社会での流行予測やその対応策に関する提言を、中国側共同研究者とともに取りまとめる。</p> <p>参加国：日本、中国 予算見込み額：1,500万円</p>	横山 直明 玄 学南

④研究者の海外派遣状況・外国人研究者の招へい状況（延べ人数）

		令和6年度	
		派遣状況	招へい状況
事業区分	合計	59	29
	文部科学省事業	1	1
	日本学術振興会事業	34	5
	当該法人による事業	22	7
	その他の事業	2	16
派遣先国	① アジア	49	23
	② 北米	1	0
	③ 中南米	5	1
	④ ヨーロッパ	1	1
	⑤ オセアニア	1	1
	⑥ 中東	0	1
	⑦ アフリカ	2	2

⑤その他・国際研究協力活動の状況

事業名等	概要	受入人数	派遣人数
JICA 課題別研修	人獣共通感染症コントロールのための検査技術と研究能力強化コース	5	0
JICA 国別研修 (モンゴル)	人獣共通感染症コントロールのための検査技術と研究能力強化コース	2	0
JICA 国別研修 (パレスチナ)	人獣共通感染症コントロールのための検査技術と研究能力強化コース	1	0
合計		8	0

6. 教育活動・人材養成

①大学院生等の受入状況

区 分	令和6年度	
		うち外国人
博士後期課程	20	15
うち社会人 DC	1	0
修士・博士前期課程	4	3
うち社会人 MC	0	0
学 部 生	17	0
合 計	41	18

②留学生の受入状況

区 分	令和6年度
① アジア	12
② 北米	0
③ 中南米	1
④ ヨーロッパ	0
⑤ オセアニア	0
⑥ 中東	2
⑦ アフリカ	5
合 計	20

③本センターを利用して学位を取得した大学院学生数

区 分	令和6年度	
	学内	学外
博士号取得者数	5	0

④本センターを利用して学位を取得した大学院学生一覧

1	専攻分野名	大学院獣医学専攻	学位授与年月日	R6年9月30日
	氏名	อารยสкул นาดะ ARAYASKUL Nada (タイ)	担当教員	河津 信一郎
	学位論文の題名	Basic studies towards Babesia-platform ticks and tick-borne diseases vaccine development		
	日本語訳	バベシア原虫をワクチンプラットフォームとするマダニ及びマダニ媒介性感染症ワクチンの開発に向けた基礎的研究		
2	専攻分野名	大学院獣医学専攻	学位授与年月日	R7年3月19日
	氏名	হাসান তঞ্জিলা HASAN Tanjila (バングラデシュ)	担当教員	西川 義文
	学位論文の題名	Development of subunit vaccine based on <i>Toxoplasma gondii</i> -derived effector molecules TgGRA7, TgGRA14, and TgGRA15 to control <i>T. gondii</i> infection		
	日本語訳	トキソプラズマ・ゴンディ由来エフェクター分子 TgGRA7、TgGRA14、TgGRA15 を基盤としたサブユニットワクチンの開発によるトキソプラズマ感染の制御		
3	専攻分野名	大学院獣医学専攻	学位授与年月日	R7年3月19日
	氏名	فاثي آتيفه FATHI Atefeh (イラン)	担当教員	麻田 正仁
	学位論文の題名	Study on the function of spherical body proteins in <i>Babesia bovis</i>		
	日本語訳	<i>Babesia bovis</i> スフェリカルボディータンパク質の機能に関する研究		
4	専攻分野名	大学院獣医学専攻	学位授与年月日	R7年3月19日
	氏名	Do Thanh Thom Do Thanh Thom (ベトナム)	担当教員	玄 学南
	学位論文の題名	Epidemiological studies on tick-borne pathogens of dogs in Vietnam		
	日本語訳	ベトナムにおける犬のマダニ媒介性病原体に関する疫学的研究		

5	専攻分野名	大学院獣医学専攻	学位授与 年月日	R7年3月19日
	氏名	リル 李航 (LI Hang) (中国)	担当教員	玄学南
	学位論文 の題名	Studies on the development of therapeutic and preventive measures for babesiosis		
	日本語訳	バベシア症に対する治療・予防法の開発に関する研究		

7. 情報発信・広報活動等

①研究活動等の公開状況（講演会、公開講座等）

シンポジウム 講演会		セミナー 公開講座		その他 (施設等の一般公開等)		合 計	
件 数	参加人数	件 数	参加人数	件 数	参加人数	件 数	参加人数
0	0	5	610	0	0	5	610
主なシンポジウム、公開講演会、施設等の一般公開の開催状況							
開催期間	形態 (区分)	対象	公開講座等名称	概 要	参加 人数		
R6.4.11	公開講座	一般	令和6年度北海道公共牧場会春期研修会	マダニによって媒介される牛小型ピロプラズマ病とその対策について	70		
R6.6.20	公開講座	一般	農林水産省令和6年度家畜衛生講習会（牛疾病特殊講習会）	牛の放牧衛生 対象者：家畜保健衛生所の職員など	100		
R6.7.27	公開講座	一般	令和6年度大学説明会（オープンキャンパス） 担当者：白藤梨可、菅沼啓輔、井上昇 会場名：原虫病研究センター	原虫病研究センターの活動紹介と研究室見学ツアー、顕微鏡を用いた標本観察と研究内容のポスター展示を行った。	230		
R6.12.7	公開講座	一般	大動物臨床研究会主催/牛臨床寄生虫研究会共催研究集会	我が国の牛小型ピロプラズマ症の現状と対策について	150		
R7.1.27	公開講座	一般	牛小型ピロプラズマ病対策を考える研修会	牛小型ピロプラズマ症の現状と対策について	60		

② 定期刊行物やホームページ等による一般社会に対する情報発信の取組

情報発信の手段・手法	概要およびわかりやすい情報発信のための工夫
ホームページ	<p>センター専用のホームページ（日本語版・英語版）を開設し、研究活動（プロジェクト、国際協力）や研究成果（論文リスト、受賞、年報）のほか、毎年度発行している年報や原虫病に関する国際的定期刊行誌「The Journal of Protozoology Research ISSN 0917-4427」等を掲載し、国内外に向け広く紹介している。</p> <p>なお、研究内容が研究者のみならず、一般市民に向けても、広く理解が得られるよう、情報発信について工夫しており、例えば多くの原虫病を媒介し、人や動物に甚大な被害を与えている「マダニ」の研究については、「マダニ解説ビデオ」や「とかちマダニじてん」を制作し、公開している。</p> <p>さらに、平成 29 年度には WOAH コラボレーティングセンター及びリファレンスラボラトリーの専用ホームページを新たに作成し、実施可能なスーラ病診断検査に関する情報と検査依頼手順を公開した。また、この手順書は、米国農務省・動植物検疫所 (UDSA-APHIS) ホームページからも公開されている。</p>
SNS	<p>研究ジャーナルや人材育成活動などの情報を発信するため、Facebook を開設し、研究成果等の情報を公開するとともに、研究者コミュニティや一般ユーザーからのレスポンス把握に利用している。</p>
リーフレット等の作成	<p>毎年センター概要や研究活動を紹介したリーフレット（日本語版・英語版）を作成し、国内外の関係機関への送付や公共施設への設置、市民が来場するイベントでの配布等により、センターの活動について広く周知している。</p>

8. 教員の研究活動

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は、2023年の感染者数は推定2億6,300万人、死亡者数は59万7,000人です。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、クリプトスポリジウムの感染による子牛の下痢症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、垂直感染、下痢のメカニズムに関する研究を行っています。病態発症の分子機序とそれに関わる原虫分子との相互作用を理解し、化合物ライブラリーや天然物を用いた創薬研究へと展開しています。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、脂質ナノ粒子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、抗原虫薬やワクチンの実用化を目指しています。

2. 主な研究テーマ

- ・ 原虫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
- ・ 原虫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. 2024年度研究の総括

ウシの流産の主な原因であるネオスポラ症に対する最も予防的な方法は生ワクチン接種である。我々の研究室で作製した NcGRA7 欠損ネオスポラ株 (NcGRA7KO) はマウスでの感染伝播と病原性が低いことが明らかになっているため、NcGRA7KO の生ワクチンとしての効果をマウスモデルで検証した。親株 Nc1 を接種した場合と比較して NcGRA7KO は病原性の優位な低下が認められ、ワクチン未接種群と比較してネオスポラの攻撃感染に対して感染防御効果を有していた。以上の結果から、NcGRA7KO はネオスポラ感染に対する生ワクチンとしての可能性が示唆された。(論文リスト1)

キク科植物 *Brachanthemum gobicum* から単離されたアシル化リグナンである Brachangobinan A (BA) は、近年抗寄生虫作用が報告されている。本研究では、BA とその鏡像異性体の全

合成、構造検証、および抗マラリア薬としての効果を検証した。その結果、BA は in vitro で抗マラリア原虫活性を有していた (IC₅₀ : 3.57 μM、選択毒性 : 11.94) 。 In silico における分子結合解析により、BA の原虫側標的分子として Pf HSP90、Pf CDK2H および Pf MAPK が推測された。 *Plasmodium yoelii* 17XNL を用いたマウス動物試験では、BA の投与により赤血球寄生率の減少が認められた。これらの結果は、BA およびその鏡像異性体が抗マラリア薬開発のためのリード化合物としての可能性を示唆している。(論文リスト3)

Haemaphysalis longicornis はアジア諸国の温帯地域に生息する一般的な Ixodida ダニの一種であり、アナプラズマ属、リケッチア属、バベシア属、重症血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) など複数の病原体を媒介する。本研究ではエジプトで採取した植物の抽出物を使用し、殺ダニ効果を検証した。スクリーニングした 11 種類の植物抽出物のうち、キク科ヨモギ属 *Artemisia judaica* の抽出物が最も高い効力を示し、高濃度および中濃度 (50 mg/mL および 25 mg/mL) で処理した場合、48 時間で 100% のマダニの死亡率を示した。 *A. judaica* 抽出物の化学成分を同定するため、液体クロマトグラフィー質量分析を行った。その結果、テルペノイド、ステロイド、フェニルプロパノイド、フラボノイド配糖体、フラボノイド、ベンゼノイドが検出され、二環性モノテルペンケトン的一种であるカンファーが主要成分として同定された。これらの結果は、 *A. judaica* 抽出物が将来的に殺ダニ治療薬の開発に利用される可能性を示唆している。(論文リスト6)

本研究では、15 種類のモンゴル産植物抽出物のマダニ *Haemaphysalis longicornis* に対する殺ダニ活性について検証した。その中から有望な候補として同定されたエゾムカシヨモギ (*Erigeron acer*) の根のアセトン抽出物は殺ダニ活性を示し、致死濃度は 5.31 mg/mL、細胞毒性濃度は 267.00 μg/mL であった。液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計と分子ネットワークを用いて、ピロリジン、アルカロイド、脂肪酸、フラボノイドを含む 13 種の天然化合物が同定され、 *E. acer* の根エキスが効果的な殺ダニ剤として有効であることが示された。(論文リスト7)

本研究では、インドネシアで採取された植物抽出物の抗マラリア活性を評価した。特に、センダン科 *Dysoxylum parasiticum* のエタノール抽出物は、その低毒性と強い抗マラリア活性で際立っており、有望な天然物候補として見出された。この抽出物から同定された主要化合物としてオレアミド (oleamide) とエルカミド (erucamide) を同定した。今回の結果より、インドネシアの植物が新しい抗マラリア薬を開発するための有望な天然物になる可能性が示唆された。(論文リスト9)

本研究では、抗マラリア原虫活性を指標にモンゴル国マメ科植物 *Oxytropis lanata* 由来の合成 2,5-diphenyloxazole 類縁体のスクリーニングを実施した。48 化合物のうち 14 化合物は in vitro で *Plasmodium falciparum* の 3D7 株 (クロロキン感受性) および K1 株 (多剤耐性) の増殖を強力に阻害し、それぞれ 3.38~12.65 μM および 1.27~6.19 μM の IC₅₀ 値を示し、ヒト包皮線維芽細胞に対しては 39.53~336.35 μM の毒性を示した。特に、化合物 31 (2-(2',3'-dimethoxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl)oxazole) および 32 (2-(2',3'-dimethoxyphenyl)-5-(2''-benzyloxyphenyl)oxazole) は、 *P. falciparum* の両株 (3D7/K1) に対して最も高い選択性毒性 (SI) を示し、それぞれ >40.20/>126.58 および >41.27/>59.06 であった。 *P. yoelii*

17XNL 感染マウスに化合物 31 および 32 を投与したところ、赤血球寄生率の有意な減少が確認された。これらの結果は、2,5-ジフェニルオキサゾールが新たな抗マラリア薬としての可能性を示唆している。（論文リスト 10）

絨毛細胞と子宮上皮細胞は、自然免疫応答を開始し、胎児と母体の境界における病原体感染を制御する上で主要な役割を果たしている。本研究では、ウシ子宮上皮細胞（BUEC）およびウシ絨毛細胞（BT）をウシインターフェロン（IFN- γ 、IFN- α 、IFN- τ ）で処理した後にネオスポラを感染させ、様々な妊娠関連タンパク質の mRNA 発現を解析した。ネオスポラの感染により、BUEC ではプロラクチン関連タンパク質 1（PRP1）、妊娠関連糖タンパク質 1（PAG1）、サイトカイン（TNF- α 、IL-8、IL-10）の発現が増加し、BT 細胞では IL-8 の発現が増加した。ウシ IFN- γ は、BUEC では IL-8 と TNF- α の発現を、BT 細胞では IL-8 の発現を抑制した。対照的に、インターフェロン刺激遺伝子 OAS1 の発現は、感染 BT 細胞を IFN- γ で処理することにより有意に増加した。しかしながら、ウシ IFN による処理は、いずれの細胞株においてもネオスポラの増殖を阻害しなかった。結論として、ウシ IFN- γ は原虫の増殖抑制よりも、感染後の子宮における病原性の制御と胎盤領域における炎症反応の誘導に重要な役割を果たしていることが示唆された。（論文リスト 11）

トキソプラズマ症を制圧するために、トキソプラズマのエフェクター分子を用いたさまざまなワクチンが世界中で研究されてきたが、防御免疫を付与するのに十分な効果が得られていない。トキソプラズマ II 型株由来の濃顆粒タンパク質 15（GRA15 (II)）は、NF- κ B を介して宿主免疫を誘導する免疫調節分子である。そこで本研究では、C57BL/6 マウスモデルを用いて、組換え GRA15 (II)（rGRA15）のトキソプラズマ感染に対する免疫賦活および防御効果を評価した。rGRA15 処理により、*in vitro* でマクロファージからの IL-12p40 の産生が増加することを観察した。rGRA15 でマウスを免疫すると、抗 GRA15 特異的抗体の産生が誘導された。rGRA15 で免疫したマウス由来の脾臓細胞は、rGRA15 刺激及び原虫ライセート刺激に対し反応して増殖し、IFN- γ 産生を強く促進した。非免疫マウスに比べて、rGRA15 で免疫したマウスは Pru (II 型) 株の攻撃感染に対して生存率が有意に向上し、脳内原虫数の減少が認められた。しかし、GRA15 を欠損した Pru 株や RH 株 (I 型) の攻撃感染に対しては、感染予防効果は認められなかった。これらの結果は、GRA15 (II) 依存性免疫が防御免疫に重要な役割を果たしていることを示唆している。本研究によりトキソプラズマ感染に対する組換えワクチン抗原として GRA15 (II) の有効性が示された。（論文リスト 12）

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

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

- ・ 原虫研創薬研究プロジェクトセミナー 2025年3月7日

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ The Journal of Protozoology Research 編集委員長

6. 2024年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Ahmed M Abdou, Yoshifumi Nishikawa, Protective efficacy of the NcGRA7-deficient parasite as a live attenuated vaccine against *Neospora caninum* infection in mice. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2025 Mar 20. doi: 10.1292/jvms.24-0460.
2. Buyanmandakh Buyankhishig, Toshihiro Murata, Koichi Narita, Chinbat Delgermaa, Yoshifumi Nishikawa, Nanang R Ariefta, Baasandorj Gantumur, Tseesuren Byambajav, Yoshinobu Ishikawa, Bekh-Ochir Davaasuren, Kenroh Sasaki, Javzan Batkhuu, Isolation of Antiplasmodial Oxazoles and Isoflavonoids from the Roots of *Oxytropis trichophysa* and Total Synthesis of Oxazole-type Alkaloids. **Journal of Natural Products**. 2025 Feb 28;88(2):448-457. doi: 10.1021/acs.jnatprod.4c01254.
3. Nanang R Ariefta, Koichi Narita, Toshihiro Murata, Yoshifumi Nishikawa, Study of the naturally occurring lignan brachangobinan A as antiplasmodial agent: synthesis, biological evaluation, and in silico prediction. **Chemico-Biological Interactions**. 2025 Jan 25:406:111362. doi: 10.1016/j.cbi.2024.111362.
4. Hideyuki Shimizu, Hiroshi Tanaka, Akira Tazaki, Kazuhisa Yamada, Ayana Suzumura, Junya Ota, Nanako Ushio-Watanabe, Hao Zheng, Keiko Kataoka, Hideaki Hara, Yoshifumi Nishikawa, Tsutomu Yasukawa, Kiyoshi Suzuma, Hiroko Terasaki, Koji M Nishiguchi, Masashi Kato, Shinya Toyokuni, Hiroki Kaneko, Silicone oil, an intraocular surgical adjuvant, induces retinal ferroptosis. **Free radical biology & medicine**. 2025 Feb 16:228:33-43. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2024.12.039.
5. Yuki Nakayama, Fumiaki Ihara, Daisuke Okuzaki, Yoshifumi Nishikawa, Miwa Sasai, Masahiro Yamamoto, *Toxoplasma* GRA15 expression on dendritic cells inhibits B cell differentiation and antibody production. **Parasitology International**. 2025Apr:105:102995. doi: 10.1016/j.parint.2024.102995.
6. Ahmed M Abdou, Nanang R Arifeta, Abdel-Latif S Seddek, Samy Abdel-Raouf Fahim Morad, Noha Abdelmageed, Mohamed O Badry, Rika Umemiya-Shirafuji, Yoshifumi Nishikawa, Acaricidal activity of Egyptian crude plant extracts against *Haemaphysalis longicornis* ticks. **PLoS One**. 2024 Jul 22;19(7):e0307297. doi:10.1371/journal.pone.0307297.
7. Orkhon Banzragchgarav, Nanang R Ariefta, Rika Umemiya-Shirafuji, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Badgar Battsetseg, Banzragch Battur, Javzan Batkhuu, Yoshifumi

- Nishikawa**, Acaricidal activity of *Erigeron acer* L. root against *Haemaphysalis longicornis* and phytochemical profiling by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 Aug 2;86(8):897-905. doi:10.1292/jvms.24-0090.
8. Fumiaki Ihara, Hisako Kyan, Yasuhiro Takashima, Fumiko Ono, Kei Hayashi, Tomohide Matsuo, Makoto Igarashi, **Yoshifumi Nishikawa**, Kenji Hikosaka, Hirokazu Sakamoto, Shota Nakamura, Daisuke Motooka, Kiyoshi Yamauchi, Madoka Ichikawa-Seki, Shinya Fukumoto, Motoki Sasaki, Hiromi Ikadai, Kodai Kusakisako, Yuma Ohari, Ayako Yoshida, Miwa Sasai, Michael E Grigg, Masahiro Yamamoto, Far-East Asian *Toxoplasma* isolates share ancestry with North and South/Central American recombinant lineages. **Nature Communications**. 2024 May 22;15(1):4278. doi:10.1038/s41467-024-47625-6.
 9. Nanang Rudianto Ariefta, Ferry Ferdiansyah Sofian, Takako Aboshi, Hadi Kuncoro, Deden Indra Dinata, Yoshihito Shiono, **Yoshifumi Nishikawa**, Evaluation of the antiplasmodial and anti-*Toxoplasma* activities of several Indonesian medicinal plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**. 2024 Sep 15:331:118269. doi: 10.1016/j.jep.2024.118269.
 10. Nanang R Ariefta, Koichi Narita, Toshihiro Murata, **Yoshifumi Nishikawa**, Evaluation of the antiplasmodial efficacy of synthetic 2,5-diphenyloxazole analogs of compounds naturally derived from *Oxytropis lanata*. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. 2024 Aug:25:100540. doi: 10.1016/j.ijpddr.2024.100540.
 11. Hanan H Abdelbaky, Naomi Shimoda, Ihshan Akthar, Shu Nakamura, Md Hasibul Hasan, Nanako Ushio, Akio Miyamoto, **Yoshifumi Nishikawa**, *In vitro* regulation of gene expression of pregnancy-associated proteins and cytokines in bovine endometrial epithelial cells and bovine trophoblastic cells by infection with *Neospora caninum*. **Parasitology International**. 2024 Aug:101:102898. doi: 10.1016/j.parint.2024.102898.
 12. Tanjila Hasan, Naomi Shimoda, Shu Nakamura, Barbara A Fox, David J Bzik, Nanako Ushio-Watanabe, **Yoshifumi Nishikawa**, Protective efficacy of recombinant *Toxoplasma gondii* dense granule protein 15 against toxoplasmosis in C57BL/6 mice. **Vaccine**. 2024 Apr 2;42(9):2299-2309. doi: 10.1016/j.vaccine.2024.02.062.

総説（*責任著者）

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. トキソプラズマ症研究の現状：実験寄生虫学から臨床応用へ、第 98 回兵庫県産科婦人科学会 学術集会、2024 年 8 月 10 日

8. 招待講演等

1. Brain manipulation of mammalian host by intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*, 第 27 回国際昆虫学会議(ICE2024)、2024 年 8 月 26 日
2. 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に向けた取り組み、第 167 回 日本獣医学会学術集会、寄生虫分科会シンポジウム、海外の標本を用いた研究と ABS 対応、2024 年 9 月 10 日
3. トキソプラズマによるホスト・マニピュレーション、第 76 回 日本寄生虫学会 南日本支部大会 第 73 回 日本衛生動物学会 南日本支部大会南日本支部合同大会 2024、J:COM ホルトホール大分、2024 年 10 月 12 日

9. 獲得研究費

1. 令和 6 年度 学術変革領域研究(A) (文部科学省)、共進化表現型創発の運営 (24H02292)、分担、令和 6 年度～令和 10 年度
2. 令和 6 年度 学術変革領域研究(A) (文部科学省)、トキソプラズマ原虫による宿主行動操作の分子機構解明 (24H02292)、代表、令和 6 年度～令和 10 年度
3. 令和 6 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 6 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 6 年度
4. 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孢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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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

受賞名：第 72 回小泉賞（日本寄生虫学会）

受賞テーマ：トキソプラズマ症病態モデルの構築とワクチン開発および創薬研究への応用

受賞年：2025 年（令和 7 年 3 月 1 8 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. 兼子 裕規：名古屋大学 医学系研究科・眼科、フェロトーシスを標的としたトキソプラズマの新規診断・治療法開発、2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日、2024 年度原虫病研究センター共同研究
2. 杉 達紀：北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所、新規ゲノム編集 CRISPR/Cas3 系によるトキソプラズマのゲノム"ごそと"欠損方法の開発、2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日、2024 年度原虫病研究センター共同研究
3. 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、抗アピコンプレクサ剤の分子標的における in vitro 再構成系および創薬基盤の創世、2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日、2024 年度原虫病研究センター共同研究
4. Ruenruetai Udonsom: Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University (タイ)、Molecular detection and genotyping of *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp and *Giardia duodenalis* in domestic animals and wildlife in Thailand、2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日、2024 年度原虫病研究センター共同研究

◆-----特任助教 渡 邊 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. 2024 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。

「トキソプラズマの慢性感染における脳の病態とオリゴデンドロサイトについての検討」

トキソプラズマ原虫は水平感染や垂直感染によって伝播され、脳や筋肉に移行した原虫はシストを形成し宿主免疫を耐過しながら生涯に渡って慢性感染します。トキソプラズマの慢性感染は動物の行動変容を引き起こすことやヒトの統合失調症などの発症リスクになることが報告されています。慢性感染が宿主の行動変容を引き起こすメカニズムとして、二次性に神経線維の脱落を引き起こす脱髄性の病変に着目し研究を行なっています。現在トキソプラズマの慢性感染の脳では常に脱髄と再髄鞘化が起こることを明らかにしており、その恒常性の維持のメカニズムについて今後研究を行う予定です。本研究は若手研究(24K18011)の研究費で実施しています。

- ・ 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. 2024 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. Hideyuki Shimizu, Hiroshi Tanaka, Akira Tazaki, Kazuhisa Yamada, Ayana Suzumura, Junya Ota, Nanako Ushio-Watanabe, Hao Zheng, Keiko Kataoka, Hideaki Hara, Yoshifumi Nishikawa, Tsutomu Yasukawa, Kiyoshi Suzuma, Hiroko Terasaki, Koji M Nishiguchi, Masashi Kato, Shinya Toyokuni, Hiroki Kaneko, Silicone oil, an intraocular surgical adjuvant, induces retinal ferroptosis. **Free radical biology & medicine**. 2025 Feb 16:228:33-43. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2024.12.039.
2. Hanan H Abdelbaky, Naomi Shimoda, Ihshan Akthar, Shu Nakamura, Md Hasibul Hasan, Nanako Ushio, Akio Miyamoto, Yoshifumi Nishikawa, *In vitro* regulation of gene expression of pregnancy-associated proteins and cytokines in bovine endometrial epithelial cells and bovine trophoblastic cells by infection with *Neospora caninum*. **Parasitology International**. 2024 Aug:101:102898. doi: 10.1016/j.parint.2024.102898.

3. Tanjila Hasan, Naomi Shimoda, Shu Nakamura, Barbara A Fox, David J Bzik, **Nanako Ushio-Watanabe**, Yoshifumi Nishikawa, Protective efficacy of recombinant *Toxoplasma gondii* dense granule protein 15 against toxoplasmosis in C57BL/6 mice. **Vaccine**. 2024 Apr 2;42(9):2299-2309. doi: 10.1016/j.vaccine.2024.02.062
4. Kaho Shinozaki, Masashi Kirinoki, Wanlop Atcharaphan, Ken-Ichi Watanabe, Yuma Ohari, Saki Suguta, Kevin Austin L Ona, **Nanako 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**. 2024 Apr: 99: 102833. doi: 10.1016/j.parint.2023.102833.

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 6 年度 若手研究 慢性期のトキソプラズマ症が髄鞘の再生機構に与える影響の解明 (24K18011) 代表 令和 6 年度～令和 8 年度
2. 令和 6 年度 学術変革領域研究 A トキソプラズマ原虫による宿主行動操作の分子機構解明 分担 令和 6 年度～令和 10 年度
3. 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 6 年度
4. 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）

該当なし

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
- ・ ワクチン候補原虫抗原の探索

3. 2024 年度研究の総括

・ クリプトスポリジウム原虫の in vitro 培養系の構築および候補抗原薬の探索

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 時間以降は増殖せず死滅します。そこで、クリプトスポリジウム原虫の増殖を簡単に評価が可能なルシフェラーゼ融合クリプトスポリジウム原虫(*Cryptosporidium parvum*)を用いて、HCT-8 細胞での原虫の感染、感染 72 時間目までの増殖を確認し、in vitro 培養系の構築をしました。さらに、長期間の in vitro 培養が可能なマウス由来腸管オルガノイドを用いて原虫が感染することを確認しました。構築した in vitro 培養系を用いて、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薬の探索を行いました。

・ クリプトスポリジウム原虫の in vivo 培養系の構築

IFN γ ^{-/-}マウスを用いて、クリプトスポリジウム原虫の系統維持が可能です。そこで、7-8 週齢 IFN γ ^{-/-}マウスにルシフェラーゼ融合クリプトスポリジウム原虫を経口投与し、オーシストが糞便中に感染 3 日目から 30 日目まで排泄されることを、ルシフェラーゼ値の測定により確認しました。得られた糞便をショ糖浮遊法および塩化セシウム法によるオーシストの精製を行い、別の IFN γ ^{-/-}マウスに感染させることで原虫の系統維持が可能になりました。さらに、クリプトスポリジウム原虫感染マウスに薬剤投与することで、糞便中に排泄されるオーシストをモニタリングすることが可能となり、今後 in vitro で得られた薬効効果の高い候補抗原薬を in

vivo で検証し、抗クリプトスポリジウム原虫薬の開発につながることを期待されます。

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. 2024 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. Makoto Hirai, Meiji Arai, Soki Hayamichi, Ayako Uchida, Megumi Sudo, **Rie Kubota**, Naoaki Shinzawa, Toshihiro Mita. Deletion of the *chloroquine resistance transporter* gene confers reduced piperazine susceptibility to the rodent malaria parasite *Plasmodium berghei*. **Antimicrob Agents Chemother**. 2025 Apr 2;69(4):e 01589 24. doi: 10.1128/aac.01589-24.

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 6 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、2024 年 7 月 27 日

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

1. 令和 6 年度 秋山記念生命科学振興財団研究助成(奨励) クリプトスポリジウム原虫と相互作用する腸内微生物の同定と in vitro 培養系の開発、代表
2. 令和 6 年度 国際共同研究加速基金(海外連携研究) (文部科学省) フィラリアを媒介しない蚊の創出に向けたパラグアイにおける遺伝疫学的研究 (24KK0135)、分担、令和 6 年度～令

和 10 年度

3. 令和 6 年度 研究活性化支援策「競争的資金獲得支援経費」 クリプトスポリジウム原虫の新規薬剤の探索および作用機序の解明（帯広畜産大学）、代表
4. 令和 6 年度 ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ(女性リーダー育成型) クリプトスポリジウム原虫の新規治療薬の探索および薬剤標的分子の同定（帯広畜産大学）、代表

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

該当なし

1. 研究テーマの概要

マダニの媒介によって伝播するピロプラズマ（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高熱や悪性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流行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
- ・ 国内に蔓延する牛小型ピロプラズマ症の臨床病理学研究
- ・ 野生動物が保有するピロプラズマの疫学研究
- ・ 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. 2024 年度研究の総括

- ・ パラグアイの牛に感染している牛バベシア種の疫学調査：パラグアイは南アメリカの農業大国で、温暖な気温、高湿度、広範な放牧管理のために、牛のマダニ寄生が高い頻度で発生しています。そのため、マダニによって媒介伝播する牛バベシア症がパラグアイで広く発生している可能性が指摘されてきました。そこで、3つの高病原性牛バベシア種 (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, および *Babesia naoakii*) のパラグアイ牛の感染状況を調査しました。パラグアイの9つの県から計326頭の牛の血液を収集し、そのDNAサンプルに対して種特異的PCR法によるスクリーニング診断を行いました。その結果、*B. bovis* と *B. bigemina* の単独感染はそれぞれ24頭(7.4%)と127頭(39.0%)で検出され、かつ両バベシア種の共感染は38頭(11.7%)で確認されました。一方で、調査した牛はすべて *B. naoakii* 感染に対して陰性を示しました。また、*B. bigemina* の単独感染率は、東部地域(49.0%)が西部地域(34.6%)よりも、広範な放牧管理下の牛(51.3%)が半集約管理下の牛(34.6%)よりも、*Bos indicus* 種の牛(50.3%)が *Bos taurus* 種(15.8%)よりも、それぞれ高い値を示すことがわかりました。本疫学調査の結果からパラグアイの牛で *B. bovis* と *B. bigemina* の感染が広く蔓延していることが明らかとなり、牛バベシア症に対する効果的な管理対策を考案・実施する重要性

が示されました。本研究は、パラグアイ (National Service for Quality and Animal Health (SENACSA), Centro de Diagnostico Veterinario) との国際共同研究として実施されました。

- ・ 沖縄県の石垣島・与那国島で優占種となったマゲシマチマダニの形態学的、生物学的、および獣医学的な疫学調査：マダニは動物にさまざまな病原体を伝播するため、獣医学的に重要です。沖縄県の八重山諸島では、1990年代にオウシダニ (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) が根絶された後、フタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*) が優勢なマダニ種となりました。しかし、最近のマダニ層に関する調査は行われていませんでした。そこで、2022年9月から2024年5月にかけて、八重山諸島の石垣島と与那国島の放牧地で待機中の生息マダニの調査を行いました。その結果、石垣島から14,784匹、与那国島から3,651匹、合計18,435匹のマダニを採集しました。石垣島と与那国島で採集されたマダニは、それぞれ7,637匹と2,697匹の幼ダニ、5,870匹と829匹の若ダニ、1,277匹と125匹の成ダニが含まれていました。形態学的分析により、採集された成ダニと若ダニはすべてマゲシマチマダニ (*Haemaphysalis mageshimaensis*) またはフタトゲチマダニに分類されました。石垣島と与那国島の両方でマゲシマチマダニが優勢であり、それぞれ99%と96%を占めていました。フタトゲチマダニの成ダニと若ダニは春、夏、秋に活動していましたが、マゲシマチマダニは年間を通じて活動できることが示されました。体色と長さ、第二触角節の毛の密度と数、第三触角節の外縁の突出度の違いがマゲシマチマダニとフタトゲチマダニを区別するのに役立つことがわかりました。マダニのDNAを用いたPCR解析により、マゲシマチマダニの9.7%とフタトゲチマダニの25%が牛小型ピロプラズマ (*Theileria orientalis*) を保有していることが示されました。本疫学調査の結果から八重山諸島ではマゲシマチマダニがフタトゲチマダニを凌駕して新たな優占種となりつつあることが示され、年間を通じたマダニ対策の必要性が明らかとなりました。本研究は、沖縄県・八重山家畜保健衛生所、沖縄県・畜産課、千葉大学・医学部、および国立感染症研究所・昆虫医科学部との国内共同研究として実施されました。
- ・ スリランカの牛に感染している *Theileria* sp. Yokoyama の疫学調査：最近発見された牛タイレリア新種 (*Theileria* sp. Yokoyama) の獣医臨床的な影響は不明でした。そのため本研究では、その *Theileria* sp. Yokoyama に感染した牛の貧血状態を検証しました。スリランカの7つの地区から計206頭の牛の血液を収集し、それぞれの赤血球 (RBC) 指数 (ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、および赤血球数) を分析・比較しました。また、血液からDNAサンプルを抽出し、シトクロム b 遺伝子を標的として新たに開発された *Theileria* sp. Yokoyama 特異的 PCR 法を用いて、スクリーニング診断を行いました。その結果、60頭の牛 (29.1%) が *Theileria* sp. Yokoyama に感染していたことが示されました。さらに、牛の品種、牛管理システム、マダニの寄生歴が、それぞれ *Theileria* sp. Yokoyama 感染のリスク要因となることも明らかとなりました。次に、RBC 指数に基づいて、調査した牛の貧血状態を比較・評価しました。非感染牛はすべて非貧血であったのに対して、*Theileria* sp. Yokoyama に感染した牛のうち15頭に貧血が観察されました。本疫学調査の結果から、*Theileria* sp. Yokoyama に

感染した牛が貧血を引き起こすことが示されました。本研究は、スリランカ (Veterinary Research Institute, University of Peradeniya, National Livestock Development Board) との国際共同研究として実施されました。

- ・ キルギスの馬に感染している馬ピロプラズマ種の疫学調査：馬ピロプラズマ症は、2種類の馬ピロプラズマ (*Theileria equi* と *Babesia caballi*) によって引き起こされます。その馬ピロプラズマ種の疫学を理解することは、流行国で効果的な制御戦略を策定するために重要です。しかし、キルギスにおけるこれら原虫種の流行状況は不明でした。本研究では、キルギスの7つの州から計226頭の馬の血液を収集しました。これらの血液からDNAサンプルを抽出後、*T. equi* と *B. caballi* に特異的なPCR法によるスクリーニング診断を行いました。その結果、56頭(24.8%)と7頭(3.1%)が *T. equi* と *B. caballi* 感染に陽性であることがわかりました。その後の遺伝子型別特異的PCR法によるタイピング解析から、*T. equi* 陽性馬がA、B、C (*Theileria haneyi* と呼ばれる)、D、およびEの5つの遺伝子型を保有していることが示されました。一方、*B. caballi* のrap-1遺伝子の系統解析から、AおよびB1の遺伝子型の感染が確認されました。明らかとなった馬ピロプラズマ2種の分布はキルギスの馬に馬ピロプラズマ症の臨床発生の可能性を示唆しており、また観察された遺伝子型の多様性は今後の疾病管理に課題があることを意味しています。すなわち、キルギスにおける馬ピロプラズマ症の包括的な制御措置の必要性が示されました。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. Skryabin) との国際共同研究として実施されました。
- ・ モンゴルの馬に感染している馬ピロプラズマ種の疫学調査：馬ピロプラズマ症は、*Theileria equi* と *Babesia caballi* によって引き起こされるマダニ媒介性原虫病です。この感染症は馬産業に大きな影響を与えるため、流行国における疾病制御は非常に重要です。特にその制御は、*T. equi* と *B. caballi* の遺伝子多型によって影響を受ける可能性が指摘されています。モンゴルは畜産業が盛んな国であり、*T. equi* と *B. caballi* が流行しています。しかし、これらの2種の原虫の感染状況と遺伝子多型を明らかにするための全国的な疫学調査は行われてきませんでした。本研究ではモンゴルの15県から計1,353頭の馬の血液を収集し、そのDNAサンプルを抽出後、*T. equi* と *B. caballi* の特異的PCR法にてスクリーニング診断を行いました。一方で、251頭の馬から血液塗抹ギムザ染色標本作製し、光学顕微鏡にて *T. equi* と *B. caballi* を観察しました。その顕微鏡検査では、251頭の馬のうち30頭(11.9%)と4頭(1.6%)がそれぞれ *T. equi* と *B. caballi* に陽性であることが確認されました。PCR診断では、1,058頭(78.2%)と62頭(4.6%)の馬がそれぞれ *T. equi* と *B. caballi* に感染していることが示されました。さらに、*T. equi* 陽性DNA42サンプルの18S rRNA配列の系統解析により、遺伝子型AとEが検出されました。一方、*B. caballi* 陽性DNA19サンプルのrap-1遺伝子配列の解析からは、遺伝子型AおよびB1に加え、遺伝子型Aに近い独自のクレードの新たな遺伝子型も検出されました。本調査研究の結果からモンゴルにおける馬ピロプラズマの広範な感染疫学マップが完成し、今後の包括的な制御法策定の必要性が明らかとなりました。本研究

は、モンゴル (Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences) との国際共同研究として実施されました。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

- ・ 日本獣医学会評議員
- ・ 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 (スリランカ、キルギス、ガーナ、ケニア、日本)「Equine Piroplasmosis」、原虫病研究センター (オンライン)、2024年4月25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
- ・ 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 代議委員会・委員
- ・ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 共同利用・共同研究拠点・課題等審査委員会・委員
- ・ 北海道大学卓越大学院 One Health Ally Course 運営委員会・委員
- ・ モンゴル国「公務員獣医師および民間獣医師実践能力強化プロジェクト」国内支援委員会 (JICA/北海道大学)・委員
- ・ 日本中央競馬会畜産振興事業・家畜呼吸器疾患制御事業推進委員会 (東京大学)・委員
- ・ プラズマ・核融合学会「プラズマ医療科学に基づいたソフトマテリア」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. 2024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. Claudia Esther Silvera Rojas, Thillaiampalam Sivakumar, Ngigi Noel Muthoni Mumbi, Believe Ahedor, Maria Fátima Rodríguez Valinotti, Tomás Javier Acosta, **Naoaki Yokoyama***, Molecular epidemiological survey of *Babesia* species infecting cattle in Paraguay. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2025 Jan:57: 101162. doi: 10.1016/j.vprsr.2024.101162.
2. Satoko Nakao, Thillaiampalam Sivakumar, Yuko Takakuwa, Hajime Suzuki, Keiichiro Ohta, Keiko Nakamura, Osamu Tsuha, Yuzuru Ikehara, Sanae Ikehara, Syota Ohki,

- Mizue Inumaru, Yukiko Higa, Rika Umemiya-Shirafuji, **Naoaki Yokoyama***, Seasonal activities, morphological characteristics, and veterinary importance of *Haemaphysalis mageshimaensis* in Ishigaki and Yonaguni, Okinawa, Japan. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2025 Jan;16(1):102440. doi: 10.1016/j.ttbdis.2025.102440.
3. Iromy Dhananjani Amarasiri, Kalaichelvan Nizanantha, Ngigi Noel Muthoni Mumbi, Isuru Sachintha Kothalawala, Sampath Madusanka, Wettam Perumage Pavithra Sandamali Indrasiri Perera, Hemal Kothalawala, Thillaiampalam Sivakumar*, **Naoaki Yokoyama**, Development of a Specific PCR Assay for *Theileria* sp. Yokoyama and Assessment of Its Potential to Cause Anemia in Cattle. **Pathogens**. 2024 Aug 29;13(9):735. doi: 10.3390/pathogens13090735.
 4. Berdikulov Atabek, Atambekova Zhyldyz, Kamarli Aitakin, Nurgaziev Rysbek, Orozov Jailobek, Believe Ahedor, Ngigi Noel Muthoni Mumbi, Yihong Ma, Davaajav Otgonsuren, Wettam Perumage Pavithra Sandamali Indrasiri Perera, Azirwan Guswanto, Thillaiampalam Sivakumar, **Naoaki Yokoyama***, Molecular prevalence and genotypic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infecting horses in Kyrgyzstan. **Parasitology International**. 2024 Oct;102:102915. doi: 10.1016/j.parint.2024.102915.
 5. Davaajav Otgonsuren, Tovuu Amgalanbaatar, Sandagdorj Narantsatsral, Batsaikhan Enkhtaivan, Dalantai Munkhgerel, Myagmar Zoljargal, Batbold Davkharbayar, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Banzrach Battur, Badgar Battsetseg, Thillaiampalam Sivakumar, **Naoaki Yokoyama***, Epidemiology and genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Mongolian horses. **Infection, Genetics and Evolution**. 2024 Apr; 119: 105571. doi: 10.1016/j.meegid.2024.105571.

総説

該当なし

著書

1. **横山 直明** (分担執筆) (2025) : 牛のタイレリア症 p144-145、牛のバベシア症 p145-146、牛のトリコモナス症 p148、馬のピロプラズマ症 p175、動物の感染症 (第5版)、迫田 義博ら編集、近代出版
2. **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～、柘陵 (愛知県立半田高等学校)、第 67 号、p142-147
3. **横山 直明** (2024) : 我が国の牛小型ピロプラズマ症の現状と対策について、産業動物臨床医学雑誌、第 15 巻、第 4 号、p151-152
4. 松井 伸一、河合 孝弘、猪熊 壽、白藤 梨可、**横山 直明** (2024) : 北海道公共牧野における牛小型ピロプラズマ症 (マダニ) 対策の試みと問題点について、産業動物臨床医学雑誌、第 15 巻、第 4 号、p153-154

5. **横山 直明**、白藤 梨可、松井 伸一、河合 孝弘（監修）（2024）：北海道マダニレポート 2024、エランコジャパン

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

1. WOAH 関連学術セミナー：ガーナ、ケニア、キルギス、スリランカ、中国、農林水産省・動物衛生課、長野県、北海道、JICA、岐阜大学、北海道大学、酪農学園大学、帯広畜産大学（13 件）
2. WOAH 技術トレーニング研修会：モンゴル、スリランカ、兵庫県、北海道、農林水産省・動物検疫所、農林水産省・動物衛生研究所、国立感染症研究所、北海道大学、JRA、日本全業工業（13 件）
3. 海外からの WOAH 診断依頼：イギリス、オランダ、ドイツ、モンゴル、スリランカ、シンガポール、アメリカ、アルゼンチン（28 件；1,772 検体）
4. 国内からの WOAH 診断依頼：沖縄県、兵庫県、福井県、北海道（11 件；614 検体）
5. WOAH コンサルティング依頼：イギリス、オランダ、フランス、ドイツ、イタリア、サウジアラビア、UAE、モンゴル、インド、シンガポール、台湾、オーストラリア、カナダ、アメリカ、アルゼンチン、日本（93 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、UAE、中国、アメリカ、アルゼンチン、日本（13 件；5,100 枚）
7. WOAH 診断用の試料提供（DNA、写真、血液、原虫）：オーストラリア、タイ、日本（4 件；31 サンプル）
8. インターンシップの受入：キルギス、モンゴル、中国、タイ、インドネシア、日本（13 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 2024 年の活動報告書を WOAH に提出
11. 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 5 年間（2020～2024）実施報告書・自己評価書を WOAH に提出

8. 招待講演等

1. 「マダニによって媒介される牛小型ピロプラズマ病とその対策について」招待講演（横山直明）、令和 6 年度北海道公共牧場会春期研修会、北海道公共牧場会（札幌）、2024 年 4 月 11 日
2. 「Survey of zoonotic *Babesia* species in questing ticks in Hokkaido, Japan」招待講演（Ma, Y.）、新疆農業大学（中国）、2024 年 6 月 9 日
3. 「牛の放牧衛生」招待講演（横山直明）、家畜衛生講習会（牛疾病特殊講習会）、農林水産省・動物衛生課（つくば）、2024 年 6 月 20 日
4. 「マダニによって媒介される牛小型ピロプラズマ病と北海道の対策について」特別講演（横

- 山直明)、原虫病学、北海道大学獣医学部(札幌)、2024年6月27日
5. 「Reference laboratory for equine piroplasmosis - Services provided and challenges encountered -」特別講演(Sivakumar, T.)、4th Regional Meeting for Reference Centres in Asia and the Pacific、東京大学(東京)、2024年7月18日
 6. 「マダニによって媒介される牛小型ピロプラズマ病と北海道の対策について」招待講演(横山直明)、第1回家畜衛生技術検討会、岐阜大学(岐阜)、2024年7月26日
 7. 「WOAH recommended diagnostic assays for equine piroplasmosis and their limitations」特別講演(横山直明)、Regional workshop on laboratory expertise for equine diseases in Asia and the Pacific、JRA馬事公苑(東京)、2024年9月17日
 8. 「Bovine babesiosis」特別講演(Sivakumar, T.)、WOAH Regional Workshop on Vector Borne diseases in Asia and the Pacific、東京大学(東京)、2024年9月19日
 9. 「Effective management of bovine babesiosis in endemic regions」招待講演(横山直明)、青海大学(中国)、2024年10月10日
 10. 「我が国の牛小型ピロプラズマ症の現状と対策について」招待講演(横山直明)、大動物臨床研究会主催/牛臨床寄生虫研究会共催研究集会、酪農学園大学(江別)、2024年12月7日
 11. 「牛小型ピロプラズマ症の現状と対策について」招待講演(横山直明)、牛小型ピロプラズマ病対策を考える研修会、松本家畜保健衛生所(長野県)、2025年1月27日

9. 獲得研究費

1. 令和6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6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」(23wm0225031h0002)、代表、令和5年度~令和7年度
3. 令和4年度 基盤研究(B)(日本学術振興会)「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)(日本学術振興会)「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6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)「スリランカのロバに感染する馬ピロプラズマの性状解析並びに馬への感染リスク評価」、代表、令和6年度~令和7年度
6. 令和4年度 特別研究員奨励費(日本学術振興会)「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
7. 令和6年度 調査研究費(日本学術振興会)「新たに発見された高病原性牛バベシア原虫の分離とその性状解析」(S24138)、受入研究者(BUMDUUREN Tuvshintulga)、令和6年度
8. 令和6年度 WOA H 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

1. 令和7年3月 農林水産省・動物検疫所から感謝状（横山直明）

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～（部局間学術交流協定）、2003年10月～（大学間学術交流協定）
2. Hemal Kothalawala: 「国際疫学調査（スリランカ）」 Veterinary Seseerch Institute, Sri Lanka, 2019年7月～（部局間学術交流協定）
3. Bayinchahan: 「国際疫学調査（中国）」 Xinjiang Agricultural University, China, 2021年10月～（部局間学術交流協定）、1999年7月～（大学間学術交流協定）
4. Liqing Ma: 「国際疫学調査（中国）」 Qinghai Academy of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Qinghai University, China、2024年10月～（部局間学術交流協定）
5. 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～（部局間学術交流協定）
6. Berdikulov Atabek: 「Identification of tick vectors, including novel and genotype genotype-specific species, that transmit *Theileria equi* and *Babesia caballi*」 Kyrgyz Research Institute of Veterinary named after Arstanbek Duisheev, Kyrgyzstan, 2024年度 原虫病研究センター共同研究
7. Liqing Ma: 「Uncovering tick vectors that transmit zoonotic *Babesia* species in China」 Qinghai Academy of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Qinghai University, China, 2024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、幼虫、若虫、成虫（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・成虫期に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、雌成虫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. 2024年度研究の総括

- ・ 牛赤血球に寄生するバベシア *Babesia ovata* のベクターによる経卵伝播は、*B. ovata* 実験感染牛で吸血させたフタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* 雌成虫由来の幼虫を用いた吸血試験により証明されています。しかし、この経卵伝播を支える分子メカニズムは未だ明らかにされていません。我々はこれまでに、フタトゲチマダニの卵形成に必須の分子が、卵巣における *B. ovata* 感染に関与することを示してきました。フタトゲチマダニでは3つの *Vg* 遺伝子 (*HIVg-1*, *HIVg-2*, *HIVg-3*) が同定されており、これらのうち、脂肪体と卵巣に発現する *HIVg-2* がマダニ血リンパ中の *B. ovata* の生存と卵巣への侵入に関与することを2022年に明らかにしたところです。しかし、中腸（消化管）特異的な *HIVg-1* がバベシア感染フタトゲチマダニにおいて果たす役割は不明でした。そこで、人工吸血法によりバベシア感染雌成虫を作出し、吸血完了（飽血）後経日的に回収した各臓器を用いて遺伝子発現を解析しました。感染群の中腸における *HIVg-1* 発現は、飽血後1日目および2日目において非感染群よりも有意に上昇することが明らかになりました。次に、RNA干渉法による *HIVg-1* 遺伝子発現抑制雌成虫を作出し、*B. ovata* 感染牛赤血球を摂取させ、各臓器の *B. ovata* DNA量を解析しました。

興味深いことに、*HIVg-1* 遺伝子発現抑制群では、対照群の雌ダニと比較して飽血後 1 日目および 2 日目の *Babesia* DNA の相対検出レベルが高いことが判明しました。これらの結果は、①中腸における *HIVg-1* 発現は卵形成だけでなく、*B. ovata* 感染によっても促進されること、②血リンパ中に分泌された *HIVg-1* は、*B. ovata* の中腸からその他臓器への伝播を負に制御することが示唆されました。すなわち、*HIVg-1* が雌成虫体内における *Babesia* の組織間移行または増殖を調節する可能性があります。これまでに得られた知見をまとめると、臓器特異的 Vg は *Babesia* 感染時に個別の役割を果たすことが考えられ、このことは、ベクターであるフタトゲチマダニ雌成虫と寄生する側であるバベシアとの間に巧みなバランス調節機構が成立していることが伺えます（論文リスト 1）。

- ・ フタトゲチマダニは主に日本を含むアジア、オセアニアに分布しており、疾病媒介の観点から医学的・獣医学的重要度の高いベクターとして世界的によく知られています。2017 年に米国への侵入が発見されて以来、その分布域は米国各地に拡大し、隣国メキシコへの侵入が懸念されています。産業動物、伴侶動物、野生動物の移動がマダニの分布域拡大のリスク要因であることから、検疫体制の重要性とその強化を提案するため、フタトゲチマダニの生物学的特徴、メキシコにおけるリスク要因を論文にまとめました（論文リスト 4）。本論文では、フタトゲチマダニの早期発見には形態および遺伝子レベルでの鑑別法が重要であること、動物の輸入時にはマダニ駆除の証明書提出を義務化すること、野生動物や家畜の移動の継続的な監視の必要性、特にメキシコ北部国境ではその監視システムを強化すべきであることを提案しました（メキシコ（Autonomous University of Queretaro）との国際共同研究）。
- ・ 上述のように、マダニがより問題とみなされるのは、人と動物での吸血時に様々な病原体を媒介するという間接的な加害があるからです。マダニに対するリスク認知のレベルは年々高まっていますが、実際は、マダニと昆虫の違い、マダニ tick と小型のダニ mite の違い、そしてマダニはどのように発育・繁殖し、時に病原体を媒介するのか、などについては一般的にはあまり知られていません。産業動物におけるマダニ媒介性感染症対策の重要性については、獣医畜産関係者以外にはほとんど知られていない状況でもあります。新たなマダニ媒介性感染症が次々と発見され、また、吸血生理や卵形成、病原体媒介の仕組みといったマダニの生物学・生理学について、我々の研究グループも含めて世界的に研究成果が蓄積されてきたことから、マダニの基礎と最新の知見を盛り込んだ「マダニ学」専門書を企画し、編集・執筆しました（著書リスト 1）。原虫病研究センターにおけるマダニバイオバンク整備についても、ラボコロニー、ゲノム情報、EST (expressed sequence tag) データベース構築などこれまでの成果を紹介しました。

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員・教育委員

- ・ 日本ダニ学会編集幹事・文献目録委員・編集委員長・評議員
- ・ 日本寄生虫学会評議員
- ・ 日本応用動物昆虫学会
- ・ 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

- ・ 公益財団法人全国競馬・畜産振興会畜産振興会 令和6年度昆虫飼料活用に向けた子豚給与試験事業に係る事業推進委員会（東京農工大学）・委員

6. 2024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. Nariko Sato, Rika Umemiya-Shirafuji*. Midgut-specific vitellogenin-1 is involved in the negative regulation of *Babesia ovata* migration or proliferation in *Haemaphysalis longicornis* tissues. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2025. (Accepted)
2. Satoko Nakao, Thillaiampalam Sivakumar, Yuko Takakuwa, Hajime Suzuki, Keiichiro Ohta, Keiko Nakamura, Osamu Tsuha, Yuzuru Ikehara, Sanae Ikehara, Syota Ohki, Mizue Inumaru, Yukiko Higa, Rika Umemiya-Shirafuji, Naoaki Yokoyama, Seasonal activities, morphological characteristics, and veterinary importance of *Haemaphysalis mageshimaensis* in Ishigaki and Yonaguni, Okinawa, Japan. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2025 Jan;16(1):102440. doi: 10.1016/j.ttbdis.2025.102440.
3. Badriah Alkathiri, Subin Lee, KyuSung Ahn, So Youn Youn, Mi-Sun Yoo, Hyang-Sim Lee, Yun Sang Cho, Jaeyun Jung, Kwangwon Seo, Soochong Kim, Rika Umemiya-Shirafuji, Xuenan Xuan, Dongmi Kwak, SungShik Shin, Seung-Hun Lee, DNA Bar-coding Using 18S rRNA Gene Fragments for Identification of Tick-Borne Protists in Ticks in the Republic of Korea. **Pathogens**. 2024 Oct 29;13(11):941. doi: 10.3390/pathogens13110941.
4. Consuelo Almazán, Rika Umemiya-Shirafuji, Rodrigo Rosario-Cruz, Baltazar Cortés García, Juan Mosqueda, Suggested Actions to Prevent the Introduction and Establishment of the Asian Longhorned Tick *Haemaphysalis longicornis* in Mexico. **South-western Entomologist**. 2024 Oct 49(3), 1123-1137. doi: 10.3958/059.049.0332
5. Takahiro Shirozu, Maria Angenica F Regilme, Manabu Ote, Mizuki Sasaki, Akira Soga, Hiroki Bochimoto, Hidenobu Kawabata, Rika Umemiya-Shirafuji, Hiroataka Kanuka, Shinya Fukumoto, *Wolbachia* infection in *Aedes aegypti* does not affect its vectorial capacity for *Dirofilaria immitis*. **Scientific Reports**. 2024 Sep 28;14(1):22528. doi: 10.1038/s41598-024-73421-9.

6. Thom Do, Linh Khanh Bui, Rika Umemiya-Shirafuji, Tawin Inpankaew, Tanjila Hasan, Iqra Zafar, Zhuowei Ma, Li Hang, Uday Kumar Mohanta, Moaz Amer, Shimaa Abd El-Salam El-Sayed, Xuenan Xuan, Ketsarin Kamyinkird, The detection of zoonotic microorganisms in *Rhipicephalus sanguineus* (brown dog ticks) from Vietnam and the frequency of tick infestations in owned dogs. **Frontiers in Veterinary Science**. 2024 Aug 12;11:1435441. doi: 10.3389/fvets.2024.1435441.
7. Badriah Alkathiri, Subin Lee, KyuSung Ahn, Yun Sang Cho, So Youn Youn, Kwangwon Seo, Rika Umemiya-Shirafuji, Xuenan Xuan, Dongmi Kwak, SungShik Shin, Seung-Hun Lee, 16S rRNA metabarcoding for the identification of tick-borne bacteria in ticks in the Republic of Korea. **Scientific Reports**. 2024 Aug 24;14(1):19708. doi: 10.1038/s41598-024-70815-7.
8. Ahmed M Abdou, Nanang R Arifeta, Abdel-Latif S Seddek, Samy Abdel-Raouf Fahim Morad, Noha Abdelmageed, Mohamed O Badry, Rika Umemiya-Shirafuji, Yoshifumi Nishikawa, Acaricidal activity of Egyptian crude plant extracts against *Haemaphysalis longicornis* ticks. **PLoS One**. 2024 Jul 22;19(7):e0307297. doi: 10.1371/journal.pone.0307297.
9. Orkhon Banzragchgarav, Nanang R Ariefeta, Rika Umemiya-Shirafuji, Punsantsogvo Myagmarsuren, Badgar Battsetseg, Banzragch Battur, Javzan Batkhuu, Yoshifumi Nishikawa, Acaricidal activity of *Erigeron acer* L. root against *Haemaphysalis longicornis* and phytochemical profiling by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 Aug 2;86(8):897-905. doi: 10.1292/jvms.24-0090.
10. 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, First molecular survey of tick-borne protozoan and bacterial pathogens in the questing tick population in Bangladesh. **Acta tropica**. 2024 Aug;256:107244. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107244.
11. 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 Jun;100:102860. doi:10.1016/j.parint.2024.102860.

総説

該当なし

著書

1. 白藤 梨可、八田 岳士、中尾 亮、島野 智之（編著）. マダニの科学—知っておきたい感染症媒介者の生物学—. 228 ページ. 2024 年 11 月 01 日. ISBN: 978-4-254-17194-5 C3045.

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 6 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、2024 年 7 月 27 日

8. 招待講演等

1. The roles of vitellogenins and their related molecules on *Babesia* transmission in *Haemaphysalis longicornis* ticks. 11th Tick and Tick-Borne Pathogen Conference (in Symposium "Tick-borne diseases of bovines"), Cuba, September 6, 2024.
2. マダニ体内における原虫伝播の分子機構を探る. 第 6 回 SFTS 研究会・学術集会（北海道大学）. 2024 年 9 月 15 日.

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
3. 令和 6 年度 挑戦的研究 (萌芽) (文部科学省)、SCID マウス/マダニでのウシバベシア生活環境の再現：伝搬阻止ワクチン開発の基盤整備 (24K21907)、分担、令和 6 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

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. 鈴木 文詞：東京農工大学大学院農学研究院、ハダニの卵黄形成における光周性の分子機構、2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日、2024 年度原虫病研究センター共同研究
2. 佐藤 梢：国立感染症研究所、ヒメダニ科 *Ornithodoros moubata* の人工吸血法による回帰熱ボレリア *Borrelia duttonii* 感染実験系の樹立、2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日、2024 年度原虫病研究センター共同研究

3. 共同研究 A 株式会社、2024 年度

高度診断学分野

◆-----助教 岡島美鈴
(Misuzu Okajima)

<<準備中>>

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を *in vitro* 培養系で維持できるという当研究グループの強みを活かしてこれら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病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病は世界の貧しい国や地域で流行している原虫感染症です。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「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病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 *in vitro* 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
- ・ トリパノソーマ病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. 2024 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。これら 2 種類のタンパク質抗原の部分アミノ酸配列を同定し、低分子抗原について 2 種の遺伝子をクローニングすることに成功した。次年度も引き続き高分子抗原の遺伝子クローニング、並びにクローニングした低分子抗原遺伝子の完全長クローニング、組換え体抗原による特異抗体検出系の開発を実施する。

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
- ・ 日本寄生虫学会北日本支部評議員
- ・ 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
- ・ vetCBT 問題精選委員寄生虫学 A (正責任者) B (副責任者)

6. 2024 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, Go Fujita, Adrian Miki C Macalanda, Maria Angenica F Regilme, Hiroshi Izumida, **Noboru Inoue**, Tomas J Acosta, Repellent activity of icaridin-impregnated horsecloth against horse flies. **Acta Tropica**. 2024 Dec;260:107485. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107485.
2. Nada Arayaskul, Masahito Asada, Atefeh Fathi, Nanang R Arieftha, Kota Komatsu, Keisuke Suganuma, **Noboru Inoue**, Shin-Ichiro Kawazu, Stable expression of red fluorescent protein-blasticidin deaminase fusion gene (*rfp-bsd*) as a selectable marker for DNA transfection in *Babesia ovata*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 Jul 2;86(7):744-747. doi: 10.1292/jvms.24-0111.
3. Ai Yamazaki, Yusuke Tanaka, Kenichi Watanabe, Mayu Sato, Shin-Ichiro Kawazu, Kiyoshi Kita, **Noboru Inoue**, Helena D Janse van Rensburg, David D N'Da, Keisuke Suganuma, Prophylactic activity of orally administered dry-heat-sterilized *Acremonium egyptiacum* against *Trypanosoma congolense*-induced animal African trypanosomosis. **Acta Tropica**. 2024 Jun: 254: 107185. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107185.
4. Keisuke Suganuma, Eito Anma, Afraa Elata, Adrian Miki C Macalanda, Shin-Ichiro Kawazu, **Noboru Inoue**, *Tabanus chrysurus* is a potential biological vector of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* in Japan. **Parasitology Research**. 2024 Apr 2;123(4): 174. doi: 10.1007/s00436-024-08196-z.
5. Kaho Shinozaki, Masashi Kirinoki, Wanlop Atcharaphan, Ken-Ichi Watanabe, Yuma Ohari, Saki Suguta, Kevin Austin L Ona, Nanako 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**. 2024 Apr: 99: 102833. doi: 10.1016/j.parint.2023.102833.

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. 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 6 年度) : 英国 (動植物衛生庁) へ計 1 件
2. WOAH 診断試料の提供「トリパノソーマ病 PCR 診断用標準 DNA」(令和 6 年度) : 英国 (動植物衛生庁) と日本 (動物検疫所門司支所) へ計 2 件
3. WOAH 診断に関するコンサルタント・情報提供「スーラ病」(令和 6 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、英国へ計 9 件
4. WOAH リファレンスラボラトリー「スーラ病」の 2023 年年次報告書を WOAH に提出

8. 招待講演等

1. Davaasuren Batdorj, Battur Banzragch, Badgar Battsetseg, Sukanuma Keisuke, **Inoue Noboru**, Dourine and Surra: Disease situation in Mongolia; drawbacks of diagnostic tests (WOAH Manual), and development of pen-side diagnostic tests for dourine. World Organization for Animal Health (WOAH) Regional workshop on laboratory expertise for equine diseases in Asia and the Pacific.、JRA 馬事公苑、9 月 17 日～18 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
2. 令和 6 年度 国際科学技術共同研究推進事業 地球規模課題対応国際科学技術協カプログラム (JST-JICA SATREPS) 条件付き採択 痘疫撲滅に向けた研究および防疫基盤の確立、代表、令和 6 年度～令和 11 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. 動検時報 vol57-2、9 ページ「第 11 回動物検疫所 (横浜) 精密検査部報告会での招待講演 (2024 年 1 月) に関する記事」
2. 十勝毎日新聞社会面 (2024 年 9 月 15 日) 「第 167 回日本獣医学会学術集会・司宰機関シンポジウムでの講演に関する記事」

13. 国内外との共同研究 (共同研究契約締結分)

1. モンゴル国立獣医学研究所

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および吸血昆虫忌避成分の探索
- ・ 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. 2024 年度研究の総括

- ・ 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。我々は *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（Suganuma et al., 2022）であり、またホンシュウジカやエゾシカにも広く *T. theileri* (-like trypanosome) が感染していることを明らかにしました（Hong and Suganuma et al., 2023）。*T. theileri* の生物学的ベクターとして各種アブ類が報告されていますが、日本に生息するアブが *T. theileri* のベクターとなっているかどうかは不明でした。今回、十勝地方で採集したアブを対象に *T. theileri* の感染・保有状況を調査しました。その結果、アカウシアブ（*Tabanus chrysurus*）の後腸内壁に鞭毛で接着して寄生する *T. theileri* のエピマスティゴート型虫体が確認されました。エピマスティゴート型虫体は、感染型であるメタサイクリック型虫体に分化する直前の昆虫体内発育ステージであることから、アカウシアブが *T. theileri* の生物学的ベクターであることが強く示唆されました（論文リスト 7）。
- ・ アブは夏季に畜産現場でよく見かける吸血昆虫ですが、アブの吸血時の痛みや飛来時の羽音に驚いた家畜動物が狂奔・忌避行動をとることで周囲の人間に危害を与える恐れがあります。とくに乗馬環境では、アブに狂奔した馬が乗り手や馬取扱者に対して危害を加えないように、ア

ブの飛来およびアブに対する忌避行動を制御する必要があります。そこで忌避剤を含有した馬着を作製し、その着用によるアブ忌避効果および忌避行動抑制効果を検証しました。その結果、忌避剤含有馬着の着用によりアブ忌避効果および忌避行動抑制効果が何も着用しない場合に比べて有意に高まりました。本研究をもとに、安全な乗馬環境を構築することで馬産業の振興に貢献できると考えられます（論文リスト3）。

- ・ 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。本年は、5-nitroindolylazine 化合物群、nifuroxazide と nitrofurazone のフェロセン誘導体化合物群および isatinylhydantoin 化合物群の抗トリパノソーマ活性評価試験を実施しました。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化合物群の改変と評価が必要になります（論文リスト1, 2, 4, 9、南ア ノースウエスト大学との共同研究）。また、天然物由来新規抗トリパノソーマ・リーシュマニア活性化化合物の探索を進め、海綿 (*Siliquariaspongia japonica*) から抗リーシュマニア活性を有する化合物 (Aurantioside L) を見出しました（論文リスト6、早稲田大学との共同研究）
- ・ これまでにトリパノソーマ特異的な呼吸鎖酵素 (*Trypanosoma alternative oxidase*) を薬剤標的とする糸状菌二次代謝産物アスコフラノン (AF) を薬剤シーズとした動物トリパノソーマ症治療・予防薬の開発に向けた研究を行っています (Yamazaki *et al.*, 2023, Suganuma *et al.*, 2024 など)。一方で流行現場での投薬のためには、できるだけ低コストかつ簡便な投薬形態を開発する必要があります。そこで、AF を高産生する糸状菌の乾熱滅菌菌体 (AF 菌) を飼料に配合し給餌することで、精製コストを抑えた動物トリパノソーマ症予防法の構築を目指した研究を実施しました。その結果、グリセロールおよび AF 菌 80 mg/kg (AF 21 mg/kg) 以上を配合した飼料の給餌により、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の発症を予防できることを明らかにしました（論文リスト8、長崎大学との共同研究）。今後、マウスおよびウシなどの産業動物を対象とした薬物動態試験を実施し、AF および AF 菌を用いた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

該当なし

6. 2024 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. Emce Badenhorst, Janine Aucamp, Christina Kannigadu, Helena D Janse van Rensburg, **Keisuke Suganuma**, David D N'Da, Synthesis and *in vitro* antitrypanosomatid activity of novel 5-nitroindole-rhodanine conjugates. **Future Medicinal Chemistry**. 2025 Mar;17(5):557-573. doi: 10.1080/17568919.2025.2470110.
2. Keamogetswe Sechoaro, Janine Aucamp, Christina Kannigadu, Helena D Janse van Rensburg, **Keisuke Suganuma**, David D N'Da, Investigation of novel isatinylyhdantoin derivatives as potential anti-kinetoplastid agents. **ChemMedChem**. 2025 Jan 2;20(1):e202400533. doi: 10.1002/cmdc.202400533.
3. **Keisuke Suganuma**, Go Fujita, Adrian Miki C Macalanda, Maria Angenica F Regilme, Hiroshi Izumida, Noboru Inoue, Tomas J Acosta, Repellent activity of icaridin-impregnated horsecloth against horse flies. **Acta Tropica**. 2024 Dec:260:107485. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107485.
4. David D N'Da, Janine Aucamp, Helena D Janse van Rensburg, **Keisuke Suganuma**, Design, synthesis, *in vitro* and *in vivo* trypanosomacidal efficacy of novel 5-nitroindolylazines. **European journal of medicinal chemistry**. 2024 Dec 15:280:116979. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116979.
5. Nada Arayaskul, Masahito Asada, Atefeh Fathi, Nanang R Arieftha, Kota Komatsu, **Keisuke Suganuma**, Noboru Inoue, Shin-Ichiro Kawazu, Stable expression of red fluorescent protein-blasticidin deaminase fusion gene (*rfp-bsd*) as a selectable marker for DNA transfection in *Babesia ovata*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 Jul 2;86(7):744-747. doi: 10.1292/jvms.24-0111.
6. Yasumoto Oyadomari, Yasuyuki Goto, **Keisuke Suganuma**, Shin-Ichiro Kawazu, Leontine E Becking, Nobuhiro Fusetani, Yoichi Nakao, Aurantoside L, a New Tetramic Acid Glycoside with Anti-Leishmanial Activity Isolated from the Marine Sponge *Siliquariaspongia japonica*. **Marine Drugs**. 2024 Apr 12;22(4):171. doi: 10.3390/md22040171.
7. **Keisuke Suganuma***, Eito Anma, Afraa Elata, Adrian Miki C Macalanda, Shin-Ichiro Kawazu, Noboru Inoue, *Tabanus chrysurus* is a potential biological vector of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* in Japan. **Parasitology Research**. 2024 Apr 2;123(4):174. doi: 10.1007/s00436-024-08196-z.
8. Ai Yamazaki, Yusuke Tanaka, Kenichi Watanabe, Mayu Sato, Shin-Ichiro Kawazu, Kiyoshi Kita, Noboru Inoue, Helena D Janse van Rensburg, David D N'Da, **Keisuke**

- Suganuma***, Prophylactic activity of orally administered dry-heat-sterilized *Acremonium egyptiacum* against *Trypanosoma congolense*-induced animal African trypanosomiasis. **Acta Tropica**. 2024 Jun; 254: 107185. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107185.
9. Anna Seetsi, David D N'Da, Nthati Nyembe, **Keisuke Suganuma**, Tsepo Ramatla, Oriël Thekisoë, *In vitro* antitrypanosomal activity of synthesized nitrofurantoin-triazole hybrids against *Trypanosoma* species causing animal African trypanosomiasis. **Experimental Parasitology**. 2024 Apr; 259: 108711. doi: 10.1016/j.exppara.2024.108711.
10. Kaho Shinozaki, Masashi Kirinoki, Wanlop Atcharaphan, Ken-Ichi Watanabe, Yuma Ohari, Saki Suguta, Kevin Austin L Ona, Nanako 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**. 2024 Apr; 99: 102833. doi: 10.1016/j.parint.2023.102833.

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！一畜大から世界へ」令和6年度オープンキャンパス

8. 招待講演等

1. 第63回 原生物・寄生虫・進化セミナー（2024/11/29、web）

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. 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、代表、2024年度
5. ノーステック財団 若手研究人材・ネットワーク育成補助金（タレント補助金）、アブの吸血被

害を可視化するための血清診断法の開発、代表、2024年度

6. 日本競走馬協会 競走馬生産育成研究助成事業 植物精油を用いた馬用吸血昆虫忌避剤の開発研究、代表、2025/1～2025/12
7. シオノギ感染症研究振興財団 次世代育成支援助成金 人獣共通感染症であるトリパノソーマ症制御に向けた家畜動物を対象とするAF活用法の開発、代表、2025/1～2025/12

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. 村田 敏拓：東北医科薬科大学薬学部、抗トリパノソーマ活性物質の動物生体内動態解析・安全性評価に向けた分析方法の検討、2024年4月1日～2025年3月31日、2024年度原虫病研究センター共同研究（番号4）
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、2024年4月1日～2025年3月31日、2024年度原虫病研究センター共同研究（番号19）
3. 長崎大学・キッコーマン株式会社 共同研究、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～2026年度

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。

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
- ・ エンセファリトゾーンの増殖率測定法の開発

3. 2024 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. 2024 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Mahmoud AbouLaila, Maram Mahmoud, Heba Wheeb, **Makoto Igarashi**, Ahmed Elkhtam, Soad Menshawy, Prevalence and molecular characterization of *Ascaridia galli* in chickens from Minoufiya Governorate, Egypt. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 2025 Jan;57:101170. doi:10.1016/j.vprsr.2024.

101170.

2. Fumiaki Ihara, Hisako Kyan, Yasuhiro Takashima, Fumiko Ono, Kei Hayashi, Tomohide Matsuo, **Makoto Igarashi**, Yoshifumi Nishikawa, Kenji Hikosaka, Hirokazu Sakamoto, Shota Nakamura, Daisuke Motooka, Kiyoshi Yamauchi, Madoka Ichikawa-Seki, Shinya Fukumoto, Motoki Sasaki, Hiromi Ikadai, Kodai Kusakisako, Yuma Ohari, Ayako Yoshida, Miwa Sasai, Michael E Grigg, Masahiro Yamamoto, Far-East Asian *Toxoplasma* isolates share ancestry with North and South/Central American recombinant lineages. **Nature Communications**. 2024 May 22;15(1):4278. doi: 10.1038/s41467-024-47625-6.

総説

該当なし

著書

該当なし

7. 市民講演会、アウトリーチ活動

該当なし

8. 招待講演等

該当なし

9. 獲得研究費

該当なし

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

該当なし

1. 研究テーマの概要

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
- ・ 野生動物保有病原体叢の網羅的解析

3. 2024 年度研究の総括

- ・ 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6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臨床検体分離法への応用（論文リスト3）、ネッタイシマカにおけるボルバキア感染のフィラリアの媒介能に関する影響の解析を行いました（論文リスト4）。またフィラリア汚染地域である沖縄県でのヒトスジシマカの採取とコロニー化、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. 2024 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. Zephirin Somda, Nicolas Zanré, Dimitri W Wangrawa, Hyacinthe K Toé, Aboubacar Sombié, Erisha Saiki, **Shinya Fukumoto**, Tatsuya Sakurai, Antoine Sanon, Phillip J McCall, Hirotaka Kanuka, David Weetman, Athanase Badolo, High pyrethroid resistance is associated with high frequencies of 1014F and 1014S kdr mutations in *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) from Ouagadougou, Burkina Faso. **Journal of Medical Entomology**. 2024 Dec 20;tjæ135. doi: 10.1093/jme/tjæ135.
2. Akiko Yamazaki, Yoshitaka Yamaguchi, Tatsuya Hiroshima, Yui Urushibara, Yukiko Shirafuji, **Shinya Fukumoto**, Yoichi Kamata, Possibility of Vertical Transmission of *Sarcocystis* Spp. in Sika Deer in Japan. **Foodborne pathogens and disease**. 2024 Nov 11. doi: 10.1089/fpd.2024.0090.
3. Mizuki Sasaki, Natsuko Fukumoto, **Shinya Fukumoto**, DNA barcoding of *Anoplocephala perfoliata* derived from a draft horse (Ban'ei horse) in Hokkaido, Japan. **Journal of equine science**. 2024 Oct;35(3):43-46. doi: 10.1294/jes.35.43.
4. Takahiro Shirozu, Maria Angenica F Regilme, Manabu Ote, Mizuki Sasaki, Akira Soga, Hiroki Bochimoto, Hidenobu Kawabata, Rika Umemiya-Shirafuji, Hirotaka Kanuka, **Shinya Fukumoto**, *Wolbachia* infection in *Aedes aegypti* does not affect its vectorial capacity for *Dirofilaria immitis*. **Scientific Reports**. 2024 Sep 28;14(1):22528. doi: 10.1038/s41598-024-73421-9.
5. Mihoko Mizuseki, Nao Ikeda, Takahiro Shirozu, Maki Yamagishi, Sugao Oshiro, **Shinya Fukumoto**, Development of a novel rodent model for dog heartworm microfilaremia using the severe-combined immunodeficiency mouse. **Scientific reports**. 2024 Jun 14;14(1):13741. doi: 10.1038/s41598-024-63165-x.
6. Fumiaki Ihara, Hisako Kyan, Yasuhiro Takashima, Fumiko Ono, Kei Hayashi, Tomohide Matsuo, Makoto Igarashi, Yoshifumi Nishikawa, Kenji Hikosaka, Hirokazu Sakamoto, Shota Nakamura, Daisuke Motooka, Kiyoshi Yamauchi, Madoka Ichikawa-Seki, **Shinya Fukumoto**, Motoki Sasaki, Hiromi Ikadai, Kodai Kusakisako, Yuma Ohari, Ayako Yoshida, Miwa Sasai, Michael E Grigg, Masahiro Yamamoto, Far-East Asian

Toxoplasma isolates share ancestry with North and South/Central American recombinant lineages. **Nature Communications**. 2024 May 22;15(1):4278. doi: 10.1038/s41467-024-47625-6.

7. Asako Haraguchi, Makoto Takano, Kanta Fujiwara, Jun Hakozaiki, Kazuhiko Nakayama, Sakure Nakamura, Yasunaga Yoshikawa, **Shinya Fukumoto**, Kodai Kusakisako, Hiromi Ikadai, Searching for new molecules involved in *Anopheles* mosquitoes' response to *Plasmodium* infection. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 May 6; 86(5): 485-492. doi: 10.1292/jvms.24-0008.

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6年度 国際共同研究加速基金(海外連携研究) (文部科学省) フィラリアを媒介しない蚊の創出に向けたパラグアイにおける遺伝疫学的研究(24KK0135)、代表、令和6年度~令和10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：末永 羅綺 (共同獣医学課程6年)
受賞名：The International Meeting on Amebiasis 2024 Best Oral Presentation Award
受賞テーマ： *Entamoeba invadens* infection causes a lethal pathology in juvenile sea turtles
受賞年：2024年12月

2. 受賞者：片山 菜月（共同獣医学課程 6 年）

受賞名：第 167 回日本獣医学会学術集会優秀発表賞

受賞テーマ：ネッタイシマカにおける *HT115* 大腸菌 *dsRNA* 発現系を用いた *RNAi* 法の検討

受賞年：2024 年 9 月

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. 2024 年度研究の総括

省略（下記の研究成果リストを参照）

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

② 主催した学会、研究会等

該当無し

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

- ・ 令和6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. 2024 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. Iguchi Aiko, Mochiduki Yukako, Akiyama Hitoshi, Kamiya Hisashi, Xuan Xuenan. Efficacy of tafenoquine in dogs naturally infected with *Babesia gibsoni*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2025. doi: 10.1292/jvms.24-0443.
2. Gałęcka Ismena, Ma Zhuowei, Xuan Xuenan, Gałęcki Remigiusz. Clinical Cases of Tick-Borne Diseases in Dogs During the Autumn-Winter Season in Poland. **Pathogens**. 2024 Dec 21;13(12):1132. doi: 10.3390/pathogens13121132.
3. Alkathiri Badriah, Lee Subin, Ahn KyuSung, Youn So Youn, Yoo Mi-Sun, Lee Hyang-Sim, Cho Yun Sang, Jung Jaeyun, Seo Kwangwon, Kim Soochong, Umemiya-Shirafuji Rika, Xuan Xuenan, Kwak Dongmi, Shin SungShik, Lee Seung-Hun. DNA Barcoding Using 18S rRNA Gene Fragments for Identification of Tick-Borne Protists in Ticks in the Republic of Korea. **Pathogens**. 2024 Oct; 13(11): 941. doi: 10.3390/pathogens13110941.
4. Li Yongchang, Li Jianlong, Xieripu Gulaimubaier, Rizk Mohamed Abdo, Macalanda Adrian Miki Cular, Gan Lu, Ren Jichao, Mohanta Uday Kumar, El-Sayed Shimaa Abd El-Salam, Chahan Bayin, Xuan Xuenan, Guo Qingyong. Molecular Detection of *Theileria ovis*, *Anaplasma ovis*, and *Rickettsia* spp. in *Rhipicephalus turanicus* and *Hyalomma anatolicum* Collected from Sheep in Southern Xinjiang, China. **Pathogens**. 2024 Aug;13(8):680. doi: 10.3390/pathogens13080680.
5. Do Thom, Bui Linh Khanh, Umemiya-Shirafuji Rika, Inpankaew Tawin, Hasan Tanjila, Zafar Iqra, Ma Zhuowei, Hang Li, Mohanta Uday Kumar, Amer Moaz, El-Sayed Shimaa Abd El-Salam, Xuan Xuenan, Kamyngkird Ketsarin. The detection of zoonotic microorganisms in *Rhipicephalus sanguineus* (brown dog ticks) from Vietnam and the frequency of tick infestations in owned dogs. **Frontiers in Veterinary Science**. 2024 Aug 12;11:1435441. doi: 10.3389/fvets.2024.1435441.
6. Alkathiri Badriah, Lee Subin, Ahn KyuSung, Cho Yun Sang, Youn So Youn, Seo Kwangwon, Umemiya-Shirafuji Rika, Xuan Xuenan, Kwak Dongmi, Shin SungShik, Lee Seung-Hun. 16S rRNA metabarcoding for the identification of tick-borne bacteria in ticks in the Republic of Korea. **Scientific Reports**. 2024 Aug; 14(1):19708. doi: 10.1038/s41598-024-70815-7.
7. Ceylan Onur, Ma Zhuowei, Ceylan Ceylan, Ider Merve, Evcı Ayşe, Mavinehir Abdullah, Xuan Xuenan, Sevinc Ferda. Feline vector-borne haemopathogens in Türkiye: the first molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and ongoing *Babesia ovis* DNA presence in unspecific hosts. **BMC Veterinary Research**. 2024 Aug; 20(1):365. doi: 10.1186/s12917-024-04209-2.
8. Ma Dongxue, Sekiguchi Karuna, Galon Eloiza May, Liu Mingming, Ji Shengwei, Xuan Xuenan. Evaluation of the inhibitory effects of sitamaquine on *Babesia* infections.

- Parasitology International.** 2024 Dec; 103:102941. doi: 10.1016/j.parint.2024.102941.
9. Do Thom, Bui KL, Zafar Iqra, Inpankaew Tawin, Galon Eloiza May, Ta PA, Tran KT, Hasan Tanjila, Shengwei Ji, Ma Zhuowei, Hang Li, Amer M Moaz, Ma Y, Mohanta Uday Kumar, El-Sayed Shimaa Abd El-Salam, Xuan Xuenan. Molecular detection, risk factors, and phylogenetic analysis of tick-borne pathogens in dogs from northern Vietnam. **Tropical Biomedicine.** 2024 Mar; 41(1): 52. doi: 10.47665/tb.41.1.007.
 10. Mohanta Uday Kumar, Abdullah SM, Al-Wasef, Chikufenji Boniface, Ma Zhuowei, Li Hang, El-Sayed Shimaa Abd El-Salam, Amer M Moaz, Do Thanh Thom, Islam Saiful, Nath Tilak Chandra, Li Yongchang, Umemiya-Shirafuji Rika, Guo Qingyong, Xuan Xuenan. First molecular survey of tick-borne protozoan and bacterial pathogens in the questing tick population in Bangladesh. **Acta Tropica.** 2024 Aug; 256:107244. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107244.
 11. Chikufenji Boniface, Mohanta Uday Kumar, Hayashida Kyoko, Chatanga Elisha, Galon Eloiza May, Kamanga Nathan, Ringo Aaron Edmond, Ma Zhuowei, Xuan Xuenan. Molecular detection and phylogenetic analysis of tick-borne pathogens in cattle from southern Malawi. **Veterinary Research Communications.** 2024 Aug; 48(4):2753. doi: 10.1007/s11259-024-10395-z.
 12. Liu Mingming, Galon Eloiza May, Ji Shengwei, Xuan Xuenan. Tafenoquine-Based Combination Therapies: A Step Toward Babesiosis Elimination. **The Journal of Infectious Diseases.** 2024 May; 229(5):1599. doi: 10.1093/infdis/jiae083.
 13. Ma Yihong, Jian Yingna, Wang Geping, Li Xiuping, Wang Guanghua, Hu Yong, Yokoyama Naoaki, Ma Liqing, Xuan Xuenan. 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.
 14. Ma Yihong, Jian Yingna, Wang Geping, Zafar Iqra, Li Xiuping, Wang Guanghua, Hu Yong, Yokoyama Naoaki, Ma Liqing, Xuan Xuenan. 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.
 15. Mohanta Uday Kumar, Marguerite Manwana Pemba, Ji Shengwei, Ma Zhuowei, Li Hang, El-Sayed Shimaa Abd El-Salam, Amer M Moaz, Chikufenji Boniface, Do Thanh Thom, Ceylan Onur, Umemiya-Shirafuji Rika, Xuan Xuenan. Molecular survey of canine tick-borne pathogens in ticks and stray dogs in Dhaka city, Bangladesh. **Parasitology International.** 2024 Jun; 100:102860. doi: 10.1016/j.parint.2024.102860.
 16. Chikufenji Boniface, Chatanga Elisha, Galon Eloiza May, Mohanta Uday Kumar, Mdzukulu Gift, Ma Yihong, Nkhata Madalitso, Umemiya-Shirafuji Rika, Xuan Xuenan. 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.
17. Ceylan Onur, Ma Zhuowei, Ceylan Ceylan, Culha Muhammed Hudai, Galon Eloiza May, Ji Shengwei, Li Hang, Zafar Iqra, Mohanta Uday Kumar, **Xuan Xuenan**, Sevinc Ferda. Wide bovine tick-borne pathogen spectrum: Predominancy of *Theileria annulata* and the first molecular detection of *Ehrlichia minasensis* in Turkey. **Veterinary Research Communications.** 2024; 48(2):1037-1059. doi: 10.1007/s11259-023-10266-z.
18. Ji Shengwei, Rizk Mohamed Abdo, Galon Eloiza May, El-Alfy El-Sayed, Mizukawa Yuki, Kojima Masayoshi, Ikegami-Kawai Mayumi, Kaya Motohiro, Liu Mingming, Itoh Isamu, **Xuan Xuenan**. 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.

総説

1. Li Dong-Fang, Wang Sen, Suarez Carlos E, **Xuan Xuenan**, He Lan, Zhao Jun-Long. Pushing the frontiers of babesiosis research: *in vitro* culture and gene editing. **Trends in Parasitology.** 2025 Apr; 41: 317. doi: 10.1016/j.pt.2025.02.008.
2. Van Wyk Clara-Lee, Mtshali Senzo, Ramatla Tsepo, Lekota Kgaugelo E, **Xuan Xuenan**, Thekisoie Oriel. Distribution of *Rhipicephalus sanguineus* and *Haemaphysalis elliptica* dog ticks and pathogens they are carrying: A systematic review. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports.** 2024 Jan; 47:100969. doi: 10.1016/j.vprsr.2023.100969.

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 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
2. 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

10. 特許申請・取得

該当なし

11. 学術に関する受賞状況

該当なし

12. 報道等

該当なし

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

該当なし

1. 研究テーマの概要

当研究室では地球規模で問題となっている原虫病であるバベシア症並びにマラリアを対象に、新規予防・治療法の開発に向け、その赤血球寄生機構の解明を行っています。バベシア原虫、マラリア原虫はアピコンプレクサ門に属する赤血球寄生原虫であり、赤血球寄生ステージにおいて哺乳類宿主に病気を引き起こします。これらの原虫は巧妙なメカニズムで宿主赤血球に侵入し、赤血球内で増殖すると共に、赤血球内での生存の維持や宿主免疫の回避のため、能動的に赤血球の改変を行います。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
- ・ 偶蹄類マラリアを始めとする住血原虫病の疫学及び病原性の解明

3. 2024 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-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 をロックダウンすると、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。さらに、SBP3 と相互作用する分子を質量分析により同定すると、多数の赤血球構造タンパク質が検出されました。以上の結果から Ridge の形成に SBP3 が決定的な役割を果たしていることを明らかにしました(論文リスト 3)。また、河津博士と共にブラストジジン S による薬剤選択を用いた *B. ovata* 組換え原虫の作製や(論文リスト 5)、千葉大学の坂本博士と共にバベシア原虫オートファジーに関する共同研究も進めました(論文リスト 2)。
- ・ 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。2024 年度は偶蹄類マラリアのほか、ピロプラズマ原虫も含めてタイ、ネパールにおいて疫学調査を行いました。本調査に関連し、2024 年度はネパール・トリブバン大学

の Kishor Pandey 博士と犬の毛包虫症についての研究発表を行いました(論文リスト 1)。

- ・ メキシコ・ケレタロ自治大学の Juan Mosqueda 博士と、ヘビ由来の抗菌ペプチドの抗バベシア原虫能について共同研究を行いました(論文リスト 4)。また同博士が主催の国際バベシア会議(メキシコ・ケレタロ)に参加し、研究発表を行うとともにディスカッションを行いました。

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 30 回分子寄生虫学ワークショップ/第 20 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 世話人. 2024 年 8 月. 千葉県長柄町
- ・ 第 167 回日本獣医学会学術集会 寄生虫分科会担当. 2024 年 9 月. 北海道帯広市

5. 各種委員会・審議会等の活動状況

該当なし

6. 2024 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. Rachana Bhusal, Tulsi Ram Gompo, Tatsuki Sugi, **Masahito Asada**, Kishor Pandey, Canine Demodicosis in Rupandehi Nepal's Street Dogs: Prevalence, Clinical Signs, and Hematology. **Veterinary Sciences**. 2025 Mar 3;12(3):238. doi:10.3390/vetsci12030238.
2. Xiaoxia X Lin, Yun D Bai, Sichang T Wang, Akira Nozawa, Tatsuya Sawasaki, Tatsunori Masatani, Kenji Hikosaka, **Masahito Asada**, Hirokazu Sakamoto, Discovery of Evolutionary Loss of the Ubiquitin-like Autophagy-Related ATG12 System in a Lineage of Apicomplexa. **Cells**. 2025 Jan 15;14(2):121. doi: 10.3390/cells14020121.
3. Atefeh Fathi, Hassan Hakimi, Miako Sakaguchi, Junya Yamagishi, Shin-Ichiro Kawazu, **Masahito Asada***, Critical role of *Babesia bovis* spherical body protein 3 in ridge formation on infected red blood cells. **PLoS Pathogens**. 2024 Nov 11;20(11):e1012294. doi: 10.1371/journal.ppat.1012294.
4. Edwin Esaú Hernández-Arvizu, **Masahito Asada**, Shin-Ichiro Kawazu, Carlos Agustín

- Vega, Angelina Rodríguez-Torres, Rodrigo Morales-García, Aldo J Pavón-Rocha, Gloria León-Ávila, Bruno Rivas-Santiago, Juan Mosqueda, Antiparasitic Evaluation of Aquiluscidin, a Cathelicidin Obtained from *Crotalus aquilus*, and the Vcn-23 Derivative Peptide against *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *B. ovata*. **Pathogens**. 2024 Jun 10; 13(6):496. doi: 10.3390/pathogens13060496.
5. Nada Arayaskul, **Masahito Asada**, Atefeh Fathi, Nanang R Arieftha, Kota Komatsu, Keisuke Suganuma, Noboru Inoue, Shin-Ichiro Kawazu, Stable expression of red fluorescent protein-blasticidin deaminase fusion gene (*rfp-bsd*) as a selectable marker for DNA transfection in *Babesia ovata*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 Jul 2;86(7):744-747. doi: 10.1292/jvms.24-0111.

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. 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 2024 年 4 月

8. 招待講演等

該当無し

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. 人獣共通感染症国際共同研究所一般共同研究、*Babesia bovis ves1* 遺伝子の発現・組換え機

構の解析、代表、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. 「治療薬開発に道筋-牛のピロプラズマ症感染-関連タンパク質発見」日本農業新聞、2024年12月19日

13. 国内外との共同研究（共同研究契約締結分）

1. Daniel Sojka; Institute of Parasitology, Biology Centre CAS: Characterization of ASP3 proteases using DiCre Babesia lineages、2024年4月1日～2025年3月31日、2024年度原虫病研究センター共同研究
2. Apinya Arnuphapprasert; Isolation of *Babesia bovis* of Thai origin and characterization of the VESA gene family encoding its virulent factors : 2024年4月1日～2025年3月31日、2024年度原虫病研究センター共同研究
3. Kishor Pandey, Tribhuvan University : Molecular characterization and genetic diversity of tick-borne diseases in Nepal、2024年4月1日～2025年3月31日、2024年度原虫病研究センター共同研究
4. 石崎 隆弘; 酪農学園大学 : ウシバベシア原虫細胞内超微細構造を解析するための反復拡大顕微鏡法 (iU-ExM)の確立、2024年4月1日～2025年3月31日、2024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。一方、アフリカにおいても、マンソン住血吸虫症とビルハルツ住血吸虫症が、農村や漁村の保健衛生と密接に関連した感染症として問題になっています。長崎大学熱帯医学研究所との共同研究で、ケニアのビクトリア湖畔及びインド洋沿岸の住血吸虫症流行地で、住血吸虫のライフサイクルへの動物の係わりを調査しています。

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
- ・ アフリカに分布する住血吸虫のライフサイクルの調査研究

3. 2024 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

明らかにすることを目的に研究を行っています。2024年度は、昨年度に引き続き、バベシア・オバタへの遺伝子導入において、新規マーカー（プラスサイジンSデアミナーゼ）の有用性を検証し、一連の研究成績を専門誌に公表いたしました（原著論文リスト5）。

- ・ 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。2024年度は、私達がこれまでに開発した組換え体抗原を用いるELISAのフィリピンでの実装に向けて、住血吸虫症流行地の住民及び保虫宿主を対象に行った有病率調査の成績を専門誌に公表いたしました（原著論文リスト1及び3）。また、ラオスとカンボジアで問題となるメコン住血吸虫症についても、適性診断技術の開発と社会実装を目的として、診断法の開発に係るこれまでの研究を整理した総説を専門誌に公表いたしました（総説リスト1）。2024年10月にラオスで開催したJSPS研究拠点形成事業（B.アジア・アフリカ学術基盤形成型）「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」第二回国際会議では、住血吸虫症の排除に向けて適性診断技術の開発と社会実装を協調して推進する目的で、South-East Asia Schistosomiasis Elimination Surveillance Initiative（SEASEI）が発足いたしました。一方、ケニアのビクトリア湖畔の住血吸虫症流行地での調査では、野生のサル類と寄生虫ライフサイクルとの係わりを調べるため、Kenya Wildlife Service（KWS）との共同研究を開始いたしました。

4. 学会等の活動状況

① 所属学会等、役職等

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

② 主催した学会、研究会等

- ・ 令和6（2024）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」の第二回国際会議（令和6年10月29-31日、ラオス国立パスツール研究所とラオス熱帯医学公衆衛生研究所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（議長）
- ・ 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. 2024 年度研究成果発表等（原著論文、総説・著書）

原著論文（*責任著者）

1. Jose Ma M Angeles, Katrina Theresa M Balboa, Frances Paula L Miaral, Klyde Irene M Ligot, Kevin Austin L Ona, Maria Luz B Belleza, Elena A Villacorte, Pilarita T Rivera, **Shin-Ichiro Kawazu**, Aya Yajima, Epidemiological Study on Humans, Animals and Snails for Schistosomiasis in Two Endemic Municipalities Nearing Elimination in Bohol, the Philippines. **Acta Parasitologica**. 2025 Jan 4;70(1):4. doi: 10.1007/s11686-024-00973-1.
2. Atefeh Fathi, Hassan Hakimi, Miako Sakaguchi, Junya Yamagishi, **Shin-Ichiro Kawazu**, Masahito Asada, Critical role of *Babesia bovis* spherical body protein 3 in ridge formation on infected red blood cells. **PLoS Pathogens**. 2024 Nov 11;20(11):e1012294. doi: 10.1371/journal.ppat.1012294.
3. Jose Ma M Angeles, Joseph Romeo O Paner, Elena A Villacorte, Pilarita T Rivera, **Shin-Ichiro Kawazu**, Seroprevalence of *Schistosoma japonicum* Infection Among Dogs and Water Buffaloes Using Recombinant Antigen ELISA in New Corella, Davao del Norte, Philippines. **Acta Parasitologica**. 2024 Dec;69(4):1998-2005. doi: 10.1007/s11686-024-00929-5.
4. Edwin Esaú Hernández-Arvizu, Masahito Asada, **Shin-Ichiro Kawazu**, Carlos Agustín Vega, Angelina Rodríguez-Torres, Rodrigo Morales-García, Aldo J Pavón-Rocha, Gloria León-Ávila, Bruno Rivas-Santiago, Juan Mosqueda, Antiparasitic Evaluation of Aquiluscidin, a Cathelicidin Obtained from *Crotalus aquilus*, and the Vcn-23 Derivative Peptide against *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *B. ovata*. **Pathogens**. 2024 Jun 10;13(6):496. doi: 10.3390/pathogens13060496.
5. Nada Arayaskul, Masahito Asada, Atefeh Fathi, Nanang R Arieftha, Kota Komatsu, Keisuke Suganuma, Noboru Inoue, **Shin-Ichiro Kawazu**, Stable expression of red fluorescent protein-blasticidin deaminase fusion gene (*rfp-bsd*) as a selectable marker for DNA transfection in *Babesia ovata*. **Journal of Veterinary Medical Science**. 2024 Jul 2;86(7):744-747. doi: 10.1292/jvms.24-0111.
6. Yasumoto Oyadomari, Yasuyuki Goto, Keisuke Suganuma, **Shin-Ichiro Kawazu**, Leontine E Becking, Nobuhiro Fusetani, Yoichi Nakao, Aurantoside L, a New Tetramic Acid Glycoside with Anti-Leishmanial Activity Isolated from the Marine Sponge *Siliquariaspongia japonica*. **Marine Drugs**. 2024 Apr 12;22(4):171. doi: 10.3390/md22040171.
7. Keisuke Suganuma, Eito Anma, Afraa Elata, Adrian Miki C Macalanda, **Shin-Ichiro Kawazu**, Noboru Inoue, *Tabanus chrysurus* is a potential biological vector of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* in Japan. **Parasitology Research**. 2024 Apr 2;123

(4):174. doi: 10.1007/s00436-024-08196-z.

8. Ai Yamazaki, Yusuke Tanaka, Kenichi Watanabe, Mayu Sato, **Shin-Ichiro Kawazu**, Kiyoshi Kita, Noboru Inoue, Helena D Janse van Rensburg, David D N'Da, Keisuke Suganuma, Prophylactic activity of orally administered dry-heat-sterilized *Acremonium egyptiacum* against *Trypanosoma congolense*-induced animal African trypanosomosis. **Acta Tropica**. 2024 Jun; 254: 107185. doi: 10.1016/j.actatropica.2024.107185.

総説

1. Adrian Miki C Macalanda, Atcharaphan Wanlop, Kevin Austin L Ona, Eloiza May S Galon, Virak Khieu, Somphou Sayasone, Aya Yajima, Jose Ma M Angeles, **Shin-Ichiro Kawazu**, Current advances in serological and molecular diagnosis of *Schistosoma mekongi* infection. **Tropical Medicine and Health**. 2024 Apr 22;52(1):32. doi: 10.1186/s41182-024-00598-0.

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 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 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
3. 令和 6 年度 科研費（挑戦的研究 萌芽）（文部科学省）、SCID マウス/マダニでのウシバベシア生活環の再現：伝搬阻止ワクチン開発の基盤整備（24K21907）、代表、令和 6 年度～令和 8 年度
4. 令和 3 年度 科研費（基盤研究（A）（一般））（文部科学省）、住血吸虫症の感染伝播ダイナミクスの解明 ～グローバルな感染コントロールを目指して（21H04852）、分担（代表：長崎大学 濱野真二郎教授）、令和 3 年度～令和 7 年度
5. SATREPS、住血吸虫症の制圧・排除へ向けた統合的研究開発（24jm0110027h0003）、分担（代表：長崎大学 濱野真二郎教授）、令和 5 年度～令和 9 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、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、マラリア原虫に対するヒストン化学修飾化合物の薬剤評価系の確立、2024年4月1日～2025年3月31日、2024年度原虫病研究センター共同研究（2024 共同-5）

9. 共同研究成果報告書

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年3月31日

採択番号	2024-共同-1		
研究部門	創薬研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	西川 義文
研究課題名	フェルトーシスを標的としたトキソプラズマの新規診断・治療法開発		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	かねこ ひろき 兼子 裕規	名古屋大学医学部医学系研究科・准教授	
研究分担者	たざき あきら 田崎 啓	名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学・講師	
	いとう せいな 伊藤 聖奈	名古屋大学医学部医学系研究科眼科・実験補佐員	
	にしかわ よしふみ 西川 義文	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>フェルトーシスは2012年に提唱された細胞死の新概念であり、鉄(Fe)の関与を特徴とし、またこれを阻害することによって細胞死を抑制できる可能性がある。研究代表者らが2023年の本申請で計画した内容に対し、トキソプラズマ感染における網膜障害・脳障害におけるフェルトーシスの関与を国際誌に発表し(<i>Redox Biology</i>, 2023:研究成果1を参照)、さらに国内特許出願およびPCT出願(JST支援)を予定より早期に完了した。新規目標は、現時点で論文発表されていない脳障害について明らかにすることと、これまでに得られた研究成果から新規検査キット・治療薬の開拓を共同研究する国際企業の選定と、学術的な国際研究協力施設の設定である。</p>		
研究経過の概要	<p>新たな研究成果として、眼科手術時に使用される医療材料であるシリコンオイルが充填された眼球中でも網膜フェルトーシスが確認され、この病態が眼トキソプラズマ症における網膜障害と類似である研究報告を行った(研究成果2を参照)。 またPCT出願された関連特許に対してJSTの追加支援が、アメリカ・ブラジルでの出願に対して決定され、現在当該国への特許出願を進めている。</p>		
研究成果の概要	<p>特願 2022-178619 【発明の名称】微生物性眼疾患の検査技術、微生物性眼疾患治療薬 出願者:兼子裕規・西川義文ほか2名 施設:名古屋大学・帯広畜産大学 は出願完了していたが、今回、JSTの支援を獲得しPCT出願が完了。 JSTの追加支援が決定し、現在アメリカ・ブラジルでの特許出願へ準備中</p>		

<p>研究成果の 発 表</p>	<p>(1) “Retinal ferroptosis as a critical mechanism for the induction of retinochoroiditis during ocular toxoplasmosis.” Ushio-Watanabe N(3 番目), Nishikawa Y(17 番目), Kaneko H(19 番目). (合計 19 名)(筆頭 3 名は同等貢献) Redox Biol. 2023 Nov;67:102890.</p> <p>(2) “Silicone oil, an intraocular surgical adjuvant, induces retinal ferroptosis.” Ushio-Watanabe N(7 番目), Nishikawa Y(11 番目), Kaneko H(18 番目). (合計 18 名) Free Radic Biol Med. 2025 Feb 16;228:33-43.</p>
----------------------	---

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月13日

採択番号	2024 共同-2		
研究部門	国際連携協力部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	麻田 正仁
研究課題名	ウシバベシア原虫細胞内超微細構造を解明するための 反復拡大顕微鏡法(iU-ExM)の確立		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	いしざき たかひろ 石崎 隆弘	酪農学園大学獣医学群医動物学ユニット・講師	
研究分担者			
	あさだ まさひと 麻田 正仁	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>近年、分子間の距離を4倍にすることができる拡大顕微鏡法(U-ExM)の確立により、広視野顕微鏡や共焦点顕微鏡で70nmオーダーの解像度を得ることができるようになった。獣医学領域でその制圧が課題となっているウシバベシア原虫は1-2.5μmのサイズであり、原虫先端部において侵入関連分子分泌制御を司るコノイド構造や、感染赤血球内部を再構造化することで原虫由来タンパク質を赤血球表面へと輸送する分子が存在すると考えられている。しかしながら、従来の共焦点顕微鏡の解像度では細胞内超微細構造構成分子の詳細な解析に限界があった。この問題を克服するために申請者は本共同研究で<u>ウシバベシア原虫における反復膨張顕微鏡法(iU-ExM)の確立を目的</u>とする。本手法は従来のU-ExM法における膨張と標識の過程を繰り返す手法であり、13-21倍のサンプル拡大により電子顕微鏡と遜色のない解像度を示すことが期待できる。確立した手法を用いて原虫先端部のオルガネラ構造、原虫間におけるER-Goldiネットワーク、原虫のタンパク質輸送機序といった従来のイメージング技術で微細解析が困難であった分子機序の解明に挑戦する。</p>		
研究経過の概要	<p>2024年度は本共同研究で使用するウシバベシア原虫受入のための環境整備(BSL2/P2区分培養環境整備)と原虫の移管手続きを実施した。現在は移管した原虫の培養順化を行っており、順化後に原虫感染赤血球を用いた実験に取り組む予定である。また現在まで原虫感染赤血球を使用できない期間においては所属先附属農場より採血した非感染ウシ赤血球を用いたiU-ExM法の予備実験を実施している。また2024年9月と2025年2月には麻田博士との研究打ち合わせを行い、本研究で使用する原虫細胞小器官並びに輸送タンパク質に特異的な抗体作製の相談を実施した。</p>		

研究成果の 発 表	2024 年度は非感染赤血球を用いた iU-ExM 法の最適化実験のみを実施したため関連学会や国際誌での発表は行なっていない。2025 年度も本課題を継続するため、2025 年度の獣医学会あるいは寄生虫学会での口頭発表を予定している。
--------------	---

NRCPD-OUAVM Joint Research Report

Date: 2025.5.14

Project no: 2024-joint-3

1. Principal investigator

Name: Liqing Ma

Position: Professor

Affiliation: Qinghai Academy of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Qinghai University, China

2. Project title:

Uncovering tick vectors that transmit zoonotic *Babesia* species in China

3. Collaborating research group members at NRCPD

Name: Naoaki Yokoyama

Position: Professor

4. Research period (in mm/dd/yyyy, and total number of years)

April 1, 2024- March 31, 2025: one year

5. Purposes and objectives

Human babesiosis is an emerging tick-borne zoonosis caused by protozoan parasites of the genus *Babesia*. Human babesiosis is a hemolytic disease, presenting symptoms that range from mild flu-like illness to severe anemia. The disease can be fatal, particularly in elderly and immunocompromised patients. Globally, most human cases are caused by the following seven zoonotic *Babesia* species: *Babesia microti*, *B. duncani*, *B. divergens*, *B. venatorum*, *B. odocoilei*, *Babesia* sp. KO1, and *B. crassa*-like species. In China, several human cases have already been documented, highlighting the need for effective surveillance and control strategies.

The strategies for controlling human babesiosis should consider the endemic zoonotic *Babesia* species and their specific tick vectors. Despite this, the endemic tick vectors transmitting zoonotic *Babesia* species in China remains limited, presenting challenges for surveillance, risk assessment, and public health response strategies.

The main aim of this study is to identify potential tick vectors of zoonotic *Babesia* species in China, with a particular focus on the Qinghai-Tibetan Plateau region, a hotspot of tick activities and a zone where livestock–wildlife–human interactions are common.

To achieve this goal, the specific objectives of our research are:

- To collect questing ticks from various ecological zones in Qinghai province.

- To screen collected ticks for zoonotic *Babesia* species using PCR assays.
- To map the distribution of zoonotic *Babesia* species and their vectors, thereby supporting the development of effective control strategies for human babesiosis.

6. Outline of research process

From FY2024 to early FY2025, we conducted extensive field surveys across multiple regions in Qinghai Province, including Minhe, Huzhu, Huangyuan, Menyuan, Xunhua, and Guide, with a particular focus on grassland habitats and forest edge environments. Questing ticks were collected using a flagging method. Ticks were morphologically identified to the species level, using established taxonomic keys, and their DNAs were extracted. The tick DNAs are currently being screened in the PCR assays developed by Prof. Yokoyama's lab at NRCPD, targeting seven major zoonotic *Babesia* species. Positive samples will undergo sequencing and phylogenetic analyses to identify the specific zoonotic *Babesia* species. The resulting data will be used to create an epidemiological map, illustrating the geographical distribution of zoonotic *Babesia* species and their potential vectors.

7. Outline of research achievements

- Over 3,000 questing ticks were successfully collected and cataloged across Qinghai province.
- Morphological identification of the collected ticks confirmed the presence of *Haemaphysalis qinghainesis* and *Dermacentor nuttalli*.
- DNAs were extracted from all collected ticks, and PCR screening for zoonotic *Babesia* species is currently in progress.
- Collaboration with NRCPD has been strengthened through training and technical support.
- Our laboratory has gained valuable experience in advanced pathogen detection techniques, enhancing our diagnostic and research capacity.

8. Publication of research achievements

In Progress.

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月2日

採択番号	2024 共同-4		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	菅沼 啓輔
研究課題名	抗トリパノソーマ活性物質の動物生体内動態解析・安全性評価に向けた 分析方法の検討		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	むらた としひろ 村田 敏拓	東北医科薬科大学・薬学部・准教授 (役割分担) 対象化合物の単離・精製・物性検討、グループ統括	
研究分担者	あぼし たかこ 網干 貴子	山形大学・農学研究科・准教授 (役割分担) 生体試料中の LC/MS・GC/MS 分析と方法検討	
	なりた こういち 成田 紘一	東北医科薬科大学・薬学部・講師 (役割分担) 対象化合物の合成による量の確保	
	こんの たいすけ 金野 太亮	東北医科薬科大学・薬学部・助教 (役割分担) 生体試料の LC・GC 注入前処理方法の検討	
	すがぬま けいすけ 菅沼 啓輔	帯広畜産大学原虫病研究センター (役割分担) 抗トリパノソーマ活性試験、動物実験	
研究期間	2024年4月1日 ～ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>2023 年度原虫病研究センター共同研究「漢方薬構成生薬—特に基金・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」をはじめ、当グループでは抗トリパノソーマ活性物質の探索を主題に継続的に研究活動を行っている。当課題は、そのうちマメ科 <i>Astragalus</i> 属、<i>Oxytropis</i> 属あるいはシソ科 <i>Scutellaria</i> 属、またキク科 <i>Artemisia</i> 属由来のアルカロイドやフラボノイド、テルペノイド類が、有力な抗トリパノソーマ活性を示した成果を起点に展開してきた共同研究課題の新たな方向性探索に位置づけられる。</p> <p>すなわち、1. 天然物医薬シーズ探索により、アルカロイド、フラボノイドに加え、テルペノイドやリグナンで一定のトリパノソーマ生育阻害活性物質を示す化合物を明らかにした。2. それら有力な化合物のうちいくつかについて、化学合成により構造多様性を創出し、構造活性相関を検討した。結果、毒性が少なく活性を維持した分子を見出している。3. 特にオキサゾール類はマウス <i>in vivo</i> 試験まで行われ、特許出願に至っている。4. ここまでの知見を十分に活用し、市販されている漢方薬配合生薬(類縁化合物が得られる)から有力な抗トリパノソーマ活性化合物・画分を得ることを目標に特定の生薬成分を候補として見出した。5. 獣医学領域で漢方薬・生薬の利用が現実的であるかの評価・調査を進めることを、当課題研究分担者を加え進めてきた。</p> <p>上記の通り、獣医学領域と薬学のお互いの強みを活かした共同研究が開始された一方で、天然物としては有力な候補化合物を見出したものの、「これまでに分析方法などの先例が存在しない対象物質について、どのように動物生体での薬物動態解析と安全性評価を行うか」が重要な共通の課題として上がった。</p>		

	<p>そこで、当申請課題では、I. これまで見出した抗トリパノソーマ活性オキサゾールやフラボノイドが実際に動物体内で吸収・効果発現・蓄積するかなど動態に関する知見を得ること。II. 揮発性があり、一般的な濃縮操作や UV 検出が困難なテルペノイド類の簡易的分析方法に関する知見を得ること。を目的に研究を行う。</p>
<p>研究経過の概要</p>	<p>今年度の研究を進めるにあたり、サンプルの準備から動物実験計画、液体・ガスクロマトグラフィー (LC・GC) 分析用前処理方法や分析条件について web 会議、対面ミーティング等で確認・検討した。次に各担当者の専門に応じて次の手順で各種実験を行った。</p> <p>① 東北医薬大で対象化合物(オキサゾールアルカロイド: 2-(2',3'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole、アシル化リグナン: brachangobinan A)の合成が成された。</p> <p>② フラボノイドの 1 化合物を加えて、上記と併せて 3 種類の化合物について試験用サンプルを調整した。またテルペノイド含有エキスを調整した。</p> <p>③ 上記で調整した試験用サンプルのオキサゾール (2-(2',3'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole)、アシル化リグナン (brachangobinan A)、フラボノイド(化合物 X1 とする)、テルペノイド(特定の精油混合物)について、マウスに腹腔内投与、経口投与、経皮投与それぞれで与え、経時的に採血しサンプルを得た。 (「動物実験等に関する規程」に従い、帯畜大「動物実験委員会」の承認済)</p> <p>④ 血液サンプル中の対象化合物と代謝化合物をターゲットに HPLC 並びに GC/MS を用いた分析を行った。すなわち東北医薬大で簡易分析を志向し、HPLC/PDA・UV・IR で分析方法を検討した。また、山形大で高感度分析を志向し、GC/MS で検出条件や分析方法を検討した。</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p><実験用化合物の合成> 今回の一連の実験に供するためのオキサゾールアルカロイド 1 種類、アシル化リグナン 1 種類を化学合成により確保しており、投与用に調整した。</p> <p><投与・採血・試料化> マウスに各化合物群【オキサゾール (2-(2',3'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole)、アシル化リグナン (brachangobinan A)、フラボノイド(化合物 X1)、テルペノイド(特定の精油混合物)】別に腹腔内・経口・経皮で投与し、投与前・30 分・60 分・4 時間・1 日・2 日・4 日後に Dry Blood Spot (DBS) 法により採血。試料保存した。</p> <p><HPLC 分析・GC/MS 分析> ・オキサゾールアルカロイド: HPLC/PDA・UV・IR で分析を行った。 ・アシル化リグナン: HPLC/PDA・UV・IR で分析を行った。 ・フラボノイド: HPLC/PDA・UV・IR で分析を行った。 上記 3 群について、腹腔内・経口・経皮いずれもマウス血中成分と考えられる全てに共通する成分ピークと、群と時間に固有のピークが複数認められた。 ・テルペノイド: GC/MS により分析を行った。 経皮投与→いずれの試料もピーク検出されず。 経口投与→30 分サンプルでテルペノイドと考えられる成分ピーク A が比較的強く検出され、60 分・4 時間でもわずかに検出された。他の時間帯サンプルはピークが検出されなかった。 腹腔内投与→投与前サンプルと 3 日サンプルからピーク B が検出された。</p>

	<p><今後の展開></p> <p>HPLC 分析、GC 分析における各種ピークの化合物同定と、より効果的な分析方法の確立が今後の課題である。</p>
研究成果の 発 表	論文 1 報を投稿中である。

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月30日

採択番号	2024 共同-5		
研究部門	国際連携協力部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	河津 信一郎
研究課題名	マラリア原虫に対するヒストン化学修飾化合物の薬剤評価系の確立		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	あらか たまさ 荒木 球沙	国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 安全管理研究センター/寄生動物・主任研究員	
研究分担者	あんのうら たけし 案浦 健	国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 寄生動物・室長	
	かわい さとる 川合 覚	獨協医科大学 熱帯病寄生虫病学・教授	
	かわず しんいちろう 河津 信一郎	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	2024年4月1日 ～ 2025年3月31日		
目的・趣旨	マラリア原虫の増殖は、ハマダラカ体内、ヒト肝臓細胞内(肝内型)、赤血球内(赤内型)の3ステージに分かれ、各段階で異なる増殖制御機構が働くと考えられるが、その分子基盤は未解明な点が多い。申請者らはヒストンの制御機構に着目し、マラリア原虫特有のエピジェネティック制御の特徴を解析してきた。既存の報告では、ヒストン修飾酵素阻害剤によって各ステージで異なる応答が見られるが、その詳細は不明である。昨年度、申請者は独自の阻害化合物ライブラリーを用いて赤内型と肝内型への <i>in vitro</i> 増殖阻害試験を行い、有効な化合物を得た。本申請では、それらを用いた <i>in vivo</i> ライブイメージング解析により、ヒストン修飾を介した原虫増殖制御の解明を目指す。		
研究経過の概要	本申請研究では、申請者らが <i>in vitro</i> 試験により選定したヒストン修飾酵素阻害化合物を用いて、マラリア原虫の肝内型および赤内型に対する増殖阻害効果を <i>in vivo</i> および <i>ex vivo</i> で検証し、ライフサイクル各段階におけるヒストン制御機構と原虫の増殖との関連を明らかにすることを目的とする。具体的には、Luciferase(以下 Luc)発現ネズミマラリア原虫(Pb-GFP;Luc)を用い、マウスへの感染モデルにおいて薬剤投与後の臓器内 Luc シグナルをライブイメージング機器(NEWTON7.0)で測定し、赤内型および肝内型における阻害効果を評価する。また、効果の認められた化合物については、Luc 発現サルマラリア原虫(Pcy-GFP;Luc)を用いたアカゲザル肝臓での <i>ex vivo</i> 評価を実施する。これらの結果をもとに、ヒストン修飾による原虫のステージ特異的な増殖制御メカニズムの解明を目指す。		

<p>研究成果の概要</p>	<p>①Pb-GFP;Luc を用いた NEWTON7.0 によるライブイメージング解析</p> <p>Pb-GFP;Luc スポロゾイトをマウスに感染させ、感染前日と当日にヒストン修飾酵素阻害剤 sh102 を経口投与し、肝内型原虫に対する効果を検証した。sh102 は、<i>in vitro</i> 肝内型にのみ増殖阻害効果を示し、宿主細胞への毒性が低い化合物である。感染後 48 時間のマウス肝では、Luc シグナルにコントロールとの差は見られず、投与濃度 (3 mg/kg、0.3 mg/kg) にも依存しなかった。しかし、72 時間後、肝内型から赤血球内型への移行時には、Luc シグナルがコントロールと比べて顕著に低下した。このことから、sh102 は肝内型原虫の後期において効果を示す可能性があるが、詳細な作用時期や機序の解析が必要である。赤血球内型で効果を示した他の化合物は細胞毒性が高く、<i>in vivo</i> 評価には不向きであったため、本研究ではまず肝内型を対象とした。今後は、さらに多くの化合物の評価を進め、赤内型でも同様の検討を行い、ヒストン制御因子のマルチステージにおける解析を目指す。</p> <p>②Pcy-GFP;Luc 感染アカゲザル肝臓を用いたライブイメージング解析</p> <p>ヒストン修飾酵素阻害剤の評価に先立ち、既存の抗マalaria薬によるアカゲザル感染モデルでの検証を行った。Pcy-GFP;Luc スポロゾイト感染 6 日後、肝臓で Luc シグナルが確認された。一方、抗マalaria薬を投与した群では、肝臓・血中ともにシグナルは検出されなかった。この結果から、NEWTON 7.0 を用いた薬剤評価系は、サルマalariaでも有効であり、ヒストン修飾酵素阻害剤の評価にも適用可能と考えられる。</p> <div data-bbox="949 481 1401 788" data-label="Image"> </div> <div data-bbox="949 945 1401 1258" data-label="Image"> </div>
<p>研究成果の発表</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1 荒木球沙, 小山哲秀, 吉村比呂, 荒井絢子, 川合覚, 関澤秀斗, 梅木優子, 中野由美子, 今井孝, 岡本宗裕, サトウ恵, Wipaporn Thabthimthong, Taratorn Kemthong, 久枝一, Suchinda Malaiwijitnond, 案浦健 「Droplet Digital PCR を用いたサルマalaria流行地におけるハマダラカの疫学調査」第 94 回 日本寄生虫学会大会, 2025 年 3 月 吹田市. 2 荒木球沙, 角田宗一郎, 川合覚, 小林宏尚, 関澤秀斗, 中野由美子, 久枝一, 案浦健, 「マalaria原虫のユニークな増殖機構とオルガネラ制御メカニズムの解明」第 47 回 日本分子生物学会, 2024 年 12 月 福岡市. 3 荒木球沙, 角田宗一郎, 川合覚, 小林宏尚, 梅木優子, 立石祐樹, 関澤秀斗, 中野由美子, 岡本宗裕, 保富康宏, 久枝一, 案浦健. 「マalaria原虫における増殖メカニズムの解明」第 57 回日本原生生物学会大会, 2024 年 11 月 山口市. 4 荒木球沙, 川合覚, 小林宏尚, 梅木優子, 立石祐樹, 中野由美子, 岡本宗裕, 保富康宏, 久枝一, 案浦健. 「マalaria原虫における <i>ex vivo</i> ライブイメージングシステムを用いた肝内型発育期の解析」日本共生物学会 第 8 回大会, 2024 年 10 月 筑波大学 つくば市. 5 荒木球沙, 小山哲秀, 吉村比呂, 荒井絢子, 川合覚, 関澤秀斗, 梅木優子, 中野由美子, 今井孝, 岡本宗裕, サトウ恵, Wipaporn Thabthimthong, Taratorn Kemthong, 久枝一, Suchinda Malaiwijitnond, 案浦健. 「droplet digital PCR

	を用いた高度サルマラリア流行地域における Anopheles からのマalaria DNA 検出」 第 83 回日本寄生虫学会東日本支部大会/第 75 回日本衛生動物学会東日本支部 大会合同大会, 2024 年 10 月 東京大学 文京区.
--	--

NRCPD-OUAVM Joint Research Report

Date: 2025.4.28

Project no: 2024-joint-6

1. Principal investigator

Name: Apinya Arnuphapprasert

Position: Lecturer

Affiliation: Rajamangala University of Technology Srivijaya

2. Project title:

Isolation of *Babesia bovis* of Thai origin and characterization of the VESA gene family encoding its virulent factors

3. Collaborating research group members at NRCPD

Name: ASADA Masahito

Position: Associate Professor

4. Research period (in mm/dd/yyyy, and total number of years)

April 1, 2024 – March 31, 2025

5. Purposes and objectives

This study aims to establish cryostabilates of Babesia parasites and genetically characterize genes related to virulent factors, specifically the VESA gene family, from Asian isolates of Babesia bovis, providing valuable insights into parasite biology. The parasite cryostabilates acquired in this study will be valuable for future research, including genome-wide studies, as well as the development of drugs.

6. Outline of research process

Research in Thailand

1. Blood sample collection:

Blood samples were collected from 15 cattle that exhibited Babesia-like clinical signs, including depression, loss of appetite, anemia, dark-colored urine, and a history of contact with ticks, the vector of Babesia bovis. The blood was added cryopreserve reagent and stored in liquid nitrogen.

2. Blood smear screening:

Blood samples were smeared onto slides, fixed with methanol, and stained with 10% Giemsa solution. The slides were then examined under a light microscope (1000x magnification) to identify the piriform

shape, which is characteristic of Babesia.

3. DNA extraction:

DNA was extracted from 200 µL of each blood sample using a commercial kit (NucleoSpin Blood Extraction Kit).

4. PCR screening:

Fifteen samples were screened by PCR using the primers BTH 18S 1st F (GTGAAACTGCGAATGGCTCATTAC) and BTH 18S 1st R (AAGTGATAAGGTTACAAAATTCC) for the first round of PCR. The second round of PCR used primers BTH 18S 2nd F (GGCTCATTACAACAGTTATAGTTTATTTG) and BTH 18S 2nd R (CGGTCCGAATAATTCACCGGAT), following the protocol described by Masatani et al. (2017).

Only PCR-positive samples had their first-round PCR products prepared and sent to the National Research Centre for Protozoan Diseases (NRCPD) at Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan, for further analysis.

Research at NRCPD

1. DNA Sequencing:

PCR products were re-amplified using the second-round primers and a larger reaction volume (50 µL). The predicted PCR bands were excised and purified using a gel purification kit (NucleoSpin PCR Clean-up and Gel Purification Kit). The purified products were then subjected to sequencing.

2. Nucleotide Analysis:

The obtained sequences were edited using BioEdit software and compared against known sequences using the nBLAST tool.

7. Outline of research achievements

Out of 15 samples, 6 samples were positive from PCR (about 1,500 bp). The result from sequencing revealed that three samples were *B. bovis*, two samples were *B. bigemina* and one sample was *T. orientalis*. There were two tubes of *B. bovis* of Thai strain were stored in liquid nitrogen.

8. Publication of research achievements

Reference

Masatani, Tatsunori, et al. "Detection and molecular characterization of Babesia, Theileria, and Hepatozoon species in hard ticks collected from Kagoshima, the southern region in Japan." *Ticks and tick-borne diseases* 8.4 (2017): 581-587.

NRCPD-OUAVM Joint Research Report

Date: 2025.5.30

Project no: 2024-joint-7

1. Principal investigator

Name: RNDr. Daniel Sojka, Ph.D.

Position: Research Scientist – Laboratory of Molecular Biology of Ticks

Affiliation: Institute of Parasitology, Biology Centre CAS, Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic, Europe

2. Project title:

Establishment of DiCre parasite lineages to study essential aspartyl peptidases of *Babesia*

3. Collaborating research group members at NRCPD

Name: Dr. Masahito Asada

Position: Associate Professor

4. Research period (in mm/dd/yyyy, and total number of years)

01/04/2024 -31/03/2025, one year

5. Purposes and objectives

The 2024 NRCPD-OUAVM Joint Research Proposal sought to expand on our prior collaborative efforts (2019, 2022, 2023, 2024), where we successfully developed transgenic *Babesia bovis* and *Babesia divergens* parasites expressing DiCre recombinase. This technology facilitates the functional analysis of essential parasite genes, previously demonstrated in model species such as *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum*. The 2024 proposal aimed to leverage the stable DiCre parasite lineages of *B. bovis* and to perform conditional -inducible- knockouts (cKO or iKO) of aspartyl proteases BdASP3a (023140) and BdASP3b (006490) of the C clade of apicomplexan aspartyl proteases, which are analogous to plasmepsins X/IX for *P. falciparum* and thus represent the potential master regulators involved in invasion and egress during *Babesia*'s asexual blood stages. Project aimed at phenotypical characterization of the ASP3a/b deleterious phenotypes, with the aim to validate the critical roles of these enzymes in the erythrocytic lifecycle of *Babesia*. This work builds up on our preliminary findings with plasmepsin X/IX and TgASP3 specific inhibitor 49c, supporting Bd/BbASP3 as promising drug targets for *Babesiosis* control.

6. Outline of research process

In accordance with the proposed plan, we utilized the extended project timeline to generate cloned populations of DiCre-expressing *B. bovis* and *B. divergens*. During the course of this work - including Dr. Dede's research visit to NRCPD-OUAVM from February 21 to March 18, 2025 - we successfully confirmed DiCre integration in *B. bovis*. Following the visiting, we also verified the presence of DiCre in *B. divergens*.

Both species were targeted using the same gene of interest (GOI) for homologous recombination; however, in *B. divergens*, the selected GOI unexpectedly impaired parasite growth and disrupted the blood cycle stages. As a result, despite obtaining a DiCre-integrated clone, we must now select an alternative GOI and generate new DiCre lines.

In parallel, we prepared control GFP/mCherry plasmid vectors for episomal monitoring of LoxP site excision by DiCre recombinase in *B. bovis*. Transfection of these plasmids into *B. bovis* is currently underway to validate Cre/LoxP excision efficiency.

The construct was designed in such a way that by making only two changes in the homologous regions, we could use the same plasmid/DiCre cassette for integration into the genome of *B. divergens*, a related *Babesia* sensu stricto species that is of relevance for us back in the Czech laboratory at IoP BC CAS. PCR confirmed the correct integration of plasmids into parasite genomes, and expression of DiCre recombinase subunits was confirmed via quantitative PCR. Additionally, control GFP/ mCherry holding plasmid vectors were prepared for episomal control of LoxP site excision by the DiCre recombinase in *B. bovis* and the Cre/Lox excisions are currently being confirmed by transfection of these plasmids to *B. bovis* DiCre lineages. We are currently in the process of designing a *B. divergens* expression plasmid based on the established *B. bovis* vector system, with necessary adaptations to ensure compatibility with *B. divergens* biology and expression requirements.

The study also targeted *B. bovis*, a key pathogen inducing bovine babesiosis in NRCPD-OUAVM. Dr. Asada's group transfected *B. bovis* with two plasmids: one has the DiCre recombinase and the other has LoxP (GFP-mCherry) sites respectively. In Dr. Alper Dede's stay, successful integration of these genetic elements was partially monitored and validated using the Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) and specific Polymerase Chain Reaction (PCR) assays. The precise placement of LoxP sites were confirmed. Additionally, the regions with targeted primers were proved and, will be prepared for rapamycin-induced excision verification (still ongoing to detect the correct drug concentration). Dr. Dede collaborated on the design and preparation of LoxP holding plasmid cassettes and the preparation of transgenic *B. bovis*. It was also decided that plasmids would be constructed following the design: 5'HR-LoxP-Gene of Interest (GOI)-Myc-Terminator-BgActin-BSD-LoxP-3'HR. He contributed to phenotypic analysis and transgenic *Babesia* isolation. He participated in discussions on the knock-in and knock-out technologies that target specific genes, for instance, those in heme and proteolytic pathways, to identify their essential roles in *Babesia* spp. These efforts advanced understanding a clearer insight into transgenic parasite preparation and supported the objectives for the experimental goals of the Sojka lab.

Furthermore, the live imaging of the parasites that contain mCherry gene enabled us to observe gene expression in real time and successful transfection. A substantial improvement towards conditional gene manipulation in *B. bovis*, these cultures were maintained under drug selection or induction conditions to maintain the DiCre-LoxP system activity.

In addition, we successfully continued the characterization of the two BdASP3 isoenzymes, which were recombinantly expressed in *E. coli* DE3 as C-terminal 6x(His)-tagged proteins in an insoluble form. This approach, which replaced the initially planned expression in baculovirus-infected insect cells due to issues with low yields and protein instability, has proven effective. The *E. coli*-expressed BdASP3 proteins were purified under denaturing conditions and subsequently refolded via step-down dialysis from 8 M urea buffers. The refolded proteins were confirmed to be catalytically active and are currently used in kinetic assays with fluorescent peptidyl substrates. In addition, we have successfully generated inactive mutant variants of both BdASP3 isoenzymes by substituting a key aspartic acid residue with alanine. These mutants are currently being used in large-scale production aimed at obtaining high-quality crystals for structure determination via X-ray crystallography. All the results obtained during 2023–2024 will be included in a forthcoming publication planned for submission to a high-impact journal by the end of 2025, with Pavla Šnebergerová as the first author and Dr. Sojka as the last and corresponding author.

Our findings were presented at several international conferences in 2024 and 2025. Dr. Sojka made two active contributions at the 15th International Symposium on Ticks and Tick-borne pathogens TTP 11th in Cuba, presenting on 'Proteases associated with the apical complex of Babesia' and International Babesiosis Meeting 2025 presenting "Proteases driving the apical complex of Babesia during egress and invasion of host red blood cells.

7. Outline of research achievements

- Successfully obtained cloned populations of DiCre *B. bovis* and *B. divergens*, but *B. divergens* need a different design.
- We PCR confirmed their integration to the parasite genome
- Lox-flanked GFP/mCherry holding plasmid vectors for episomal control of LoxP site excision by the DiCre recombinase in *B. bovis*
- We designed the final plasmid for BdASP3 cKO using the DiCre approach.
- Live imaging of *B. bovis* with mCherry was achieved.
- In parallel, we successfully expressed BdASP3a/b isoenzymes as C-terminal 6x(His)-tagged proteins in *E. coli* and we are using them for 3D structure studies using protein crystallography.

8. Publication of research achievements

Some of the experience gained during this project contributed to the study published by Robbertse et al. (2024), titled “Evaluating Antimalarial Proteasome Inhibitors for Efficacy in Babesia Blood Stage Cultures” in ACS Omega (PMCID: PMC11561622, PMID: 39554424).

9. Future goals

Our future goals include obtaining *B. divergens* DiCre and LoxP clones carrying mCherry and BSD resistance markers, followed by confirmation of successful transfection using IFAT, PCR integration, and flow cytometry. The final plasmid for the conditional knockout (cKO) of BdASP3, containing a floxed BdASP3 gene sequence, has been designed and will be transfected upon completion of Cre/Lox episomal excision validation. The resulting cKO BdASP3a/b lines will enable rapamycin-induced gene excision and phenotypic analysis. This approach will also be used to monitor the effects of other genes of interest (GOIs) on parasite development. Importantly, this cKO system represents a valuable tool for the *Babesia* research community, enabling functional studies of essential genes—many of which encode high-priority enzymatic targets for future therapeutic development.

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月28日

採択番号	2024 共同-8		
研究部門	創薬研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	西川 義文
研究課題名	新規ゲノム編集 CRISPR/Cas3 系によるトキソプラズマの ゲノム"ごそつ"欠損方法の開発		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	すぎ たつき 杉 達紀	北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所 国際協力教育部門・助教	
研究分担者			
	にしかわ よしふみ 西川 義文	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	2024年4月1日 ～ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>CRISPR/Cas3 を用いたゲノム編集技術は、①標的配列を決定するガイド RNA が長く、特異性を確保しやすいこと、②gRNA 配列の 5'側において最大約 100 kb にわたる広範なゲノム領域を欠損させることが可能である、という特徴を有する。本技術は、2019 年に哺乳類細胞においてその再構築およびゲノム編集への応用が報告された新しいタイプのゲノム編集技術であり、これまでに原虫への導入例は報告されていない。</p> <p>本研究の目的は、この新規ゲノム編集技術である CRISPR/Cas3 をトキソプラズマに導入し、原虫において本技術が導入された際に、どのような割合・長さのゲノム欠損が生じるのかという基礎的知見を蓄積することである。これらの知見は、将来的に病原性因子を広範に欠損させた「最弱トキソプラズマ」の創出に向けて、大規模なゲノム欠失を誘導するための基盤技術の確立に貢献すると期待される。</p>		
研究経過の概要	<p>(1)CRISPR/Cas3 システム発現原虫の作出</p> <p>ヒト細胞で再構成された CRISPR/Cas3 システム (PMID: 31811138) をトキソプラズマに導入するため、トキソプラズマ特異的な遺伝子発現制御配列に置換したプラスミドを新たに構築した。また、モデル遺伝子として選定した <i>uprt</i> 遺伝子領域を標的とするガイド RNA についても、設計を完了した。</p> <p>(2)モデル遺伝子座を利用した、CRISPR/Cas3 が引き起こすゲノム欠損の評価</p> <p>導入された CRISPR/Cas3 コンプレックスが原虫内でどのようなゲノム欠損を誘導できるかを評価するため、ネガティブセレクションが可能なモデル遺伝子座として <i>uprt</i> 遺伝子座を用いた。原虫病研究センターから分与を受けた RH 株において、Cas3 複合体および対応する guide RNA を発現させ、標的位置におけるゲノム欠損を解析した。その結果、他生物での報告と同様に、gRNA 標的部位の近傍から上流方向に数百～数千 bp</p>		

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年6月12日

採択番号	2024-共同-9		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	白藤 梨可
研究課題名	ハダニの卵黄形成における光周性の分子機構		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	すずき たけし 鈴木 丈詞	東京農工大学大学院農学研究院・教授	
研究分担者	たけだ なおき 武田 直樹	東京農工大学大学院生物システム応用科学府・大学院生	
	りすまやに Rismayani	東京農工大学大学院生物システム応用科学府・大学院生	
	おおさこ ともひろ 大迫 朋寛	東京農工大学大学院生物システム応用科学府・大学院生	
	しらふじ りか 白藤 梨可	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024年4月1日 ～ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>殺虫剤抵抗性が発達しやすい難防除害虫であるナミハダニ(以下、ハダニ)は、温帯および冷帯地域では秋から春にかけて休眠状態で越冬する。ハダニは産雄性単為生殖であり、その休眠は、雌のみ成虫の段階で誘導される。ハダニの休眠の誘導因子は長夜であり、節足動物の光周性のモデルシステムとして、半世紀以上研究が進められてきた。休眠が誘導された雌成虫では、体色が黄緑色からオレンジ色に変化し、生殖は停止する。近年のゲノム解析により、体色変化に関与するカロテノイド合成遺伝子や卵黄タンパク質前駆体のビテロジェニン(Vg)やその受容体(VgR)が同定されている。しかし、体色変化と卵黄形成の関係や、それぞれの上流にある共通のトリガー因子は不明である。他方、同じダニ目に属するマダニでは、卵形成の分子機構研究が進展し、栄養シグナル伝達を担うmTOR経路によってVg合成が制御されることが判明している。そこで本研究では、マダニの卵黄形成の専門家である白藤博士との共同研究の実施により、ハダニのmTOR経路を解析し、光周期依存的なVg合成および体色変化と両者の関係における分子機構の解明を目指す。</p>		
研究経過の概要	<p>ナミハダニの光周性機構の分子基盤の解明を目的とし、休眠(D)個体群と非休眠(ND)個体群を用いた以下の実験を実施した。まず、戻し交配実験を実施し、非休眠形質の遺伝様式を解析した。次にbulked segregant解析(BSA)を実施し、責任遺伝子座の染色体上での位置の特定を試みた。また、両個体群を休眠/非休眠誘導条件下で飼育し、トランスクリプトームおよびプロテオーム解析により遺伝子発現パターンをRNAおよびタンパク質レベルで調査した。最後に、特定した候補遺伝子に対してRNA干渉(RNAi)法による機能解析を実施した。他方、D個体群における体色変化の原因遺伝子の探索を目的とし、休眠誘導条件下での経時的なプロテオーム解析も実施した。</p>		

<p>研究成果の 概 要</p>	<p>本研究により、ナミハダニの非休眠形質は単一の遺伝子座による顕性遺伝であることが明らかになり、母性遺伝は関与しないことが確認された。BSA 解析により、責任遺伝子座 (ND 遺伝子座) の候補は、第 1 染色体の 2 つの近接領域に存在し、連鎖していることが判明した。この領域には計 16 個の遺伝子が座乗していた。トランスクリプトーム解析では、16 遺伝子のうち 12 遺伝子で RNA が検出された。さらに、遺伝子間領域において、D および ND 個体群で鎖長が異なり、かつ 9 個の SNPs を含む long non-coding RNA (lncRNA) を発見した。プロテオーム解析では、主成分分析により個体群間の発現パターンの差異が明確に示され、12 遺伝子のうちの 1 遺伝子については、D および ND 個体群で発現量が異なることが判明した。RNAi 実験では、lncRNA 抑制区において他の処理区と比較して非休眠率の有意な上昇が認められ、この lncRNA が休眠制御に重要な役割を果たすことが示唆された。他方、体色変化の分子機構の解析では、すでに報告されていたカロテノイド生合成酵素群に加え、脂質代謝関連の酵素も関与している可能性が示された。</p>
<p>研究成果の 発 表</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) Rismayani, K. Sai, T. Ohsako, Y. Arai, N. Takeda and T. Suzuki (2024) Proteomic evidence for carotenoid biosynthesis upregulated upon induction of diapause in the two-spotted spider mite, <i>Tetranychus urticae</i> Koch. 第 33 回日本ダニ学会大会, 静岡, 2024 年 9 月 18–19 日 (口頭) 2) 大迫朋寛, 武田直樹, 鈴木丈詞 (2024) ナミハダニの休眠を誘導する光周性の分子機構. 第 33 回日本ダニ学会大会, 静岡, 2024 年 9 月 18–19 日 (口頭) 3) Rismayani, K. Sai, T. Ohsako, Y. Arai, N. Takeda and T. Suzuki (2025) Carotenoid biosynthesis and lipid metabolism during photoperiodic induction of diapause in the two-spotted spider mite, <i>Tetranychus urticae</i> Koch. 第 69 回日本応用動物昆虫学会大会, 幕張, 2025 年 3 月 20–22 日 (口頭) 4) 大迫朋寛, 武田直樹, 鈴木丈詞 (2025) マルチオミックス解析によるナミハダニの光周性関連遺伝子のスクリーニング. 第 69 回日本応用動物昆虫学会大会, 幕張, 2025 年 3 月 20–22 日 (ポスター)

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月28日

採択番号	2024 共同-10		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	白藤 梨可
研究課題名	ヒメダニ科 <i>Ornithodoros moubata</i> の人工吸血法による 回帰熱ボレリア <i>Borrelia duttonii</i> 感染実験系の樹立		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	さとう こずえ 佐藤 梢	国立感染症研究所 細菌第一部・研究員	
研究分担者	かわばた ひろき 川端 寛樹	国立感染症研究所 細菌第一部・室長	
	きゅう えいしん 邱 永晋	北海道大学大学院獣医学研究院・客員研究員	
	しらふじ りか 白藤 梨可	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>ダニ媒介性感染症の病原体はダニの唾液腺に侵入・定着し、吸血行動中に唾液腺から分泌される唾液とともに哺乳類等の宿主に吐出される。ダニの唾液には宿主免疫を調節する生理活性物質が含まれるが、近年、ダニ媒介性の病原体の一部は、これらのダニ唾液成分の一部と結合することで宿主の免疫機構を回避し、感染を成立させることが明らかとなってきた。他方、ヒメダニの一種であるオルニソドロス属ダニが媒介する回帰熱群ボレリアについても、同様のメカニズムが存在する可能性があるが、これに関する研究は未だ報告がない上に、それらを調べる手法の開発も遅れている。そこで本研究では、オルニソドロス属ダニによる回帰熱群ボレリア伝播メカニズムの全容を明らかにすることを目的とし、その研究に着手するための研究基盤の樹立を行う。</p>		
研究経過の概要	<p>マダニ科の唾液因子の研究から <i>O. moubata</i> の唾液成分は <i>B. duttonii</i> の伝播促進に関与している可能性があるが、その証明はなされていない。なぜなら、<i>B. duttonii</i> 感染 <i>O. moubata</i> の作出など、唾液因子が <i>B. duttonii</i> に与える伝播促進を調べる手法の開発が遅れているためである。そこで本研究では、帯広畜産大学で飼育管理している <i>O. moubata</i> を活用し、『<i>B. duttonii</i> 感染 <i>O. moubata</i> の作出』を行った。<i>B. duttonii</i> 感染 <i>O. moubata</i> を作出するためには、[1] <i>O. moubata</i> が吸血時に <i>B. duttonii</i> を獲得し、経発育期感染を確認すること、加えて、[2] 経発育期感染した <i>O. moubata</i> が、次の刺咬・吸血するタイミングで <i>B. duttonii</i> を宿主に吐出、かつ感染を確認する必要性が考えられた。そのために、以下の方法で研究を実施した。</p>		

【方法と結果】

(1) 人工吸血法の基盤構築

*B. duttonii*は動物由来の血液より、運動性や増殖に影響を受けやすいため、人工吸血法の血液は、実験用血液として購入可能な動物血液2種(ウサギ, ウシ)を実験に供し、脱繊維血ならびに血清の選択を実施した。2種の脱繊維血と血清を3:7の比率で混合した血液(以下, 人工血と略)に、試験管培養し、菌数を調整した*B. duttonii*を添加後、34°Cで1晩培養した。暗視野顕微鏡による観察の結果、*B. duttonii*は2種の人工血中で運動性が見られ増殖した。次に、人工吸血装置に人工血を各々加え、*O. moubata*に吸血させた。*O. moubata*は動物種に関わらず、吸血を始め、飽血後、3-4週間で脱皮し、次の発育期に移行した(Fig. 1)。

以上の結果から、2種の人工血は*B. duttonii*, *O. moubata*両方に適していた。一方、*B. duttonii*培養にウ

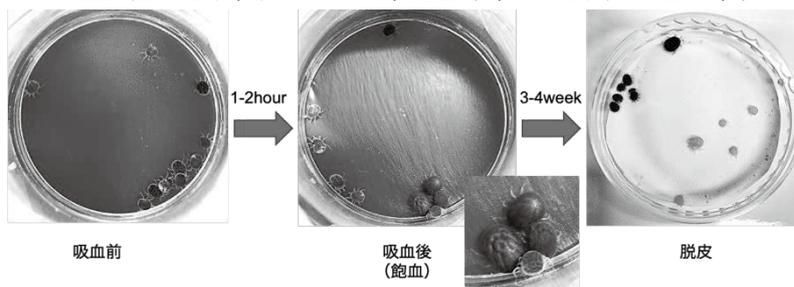


Fig.1 人工吸血装置による*O. moubata*の吸血

サギ血清を含んだ培地が利用されていることから、以下の実験から、ウサギ人工血を使用した。

(2) *O. moubata*が吸血時に*B. duttonii*を獲得し、経発育期感染を成立させるために、人工吸血法で*O. moubata*に*B. duttonii*を獲得させる吸入試験を実施した。

B. duttonii(1×10^7 cell/ml)が添加された人工血を*O. moubata*第2若ダニに吸血させ、経発育した*O. moubata*第3若ダニ(11個体)のDNAを抽出した。TaqMan MGB probeを用いたReal time-PCR法で、各DNAサンプルにおける*B. duttonii* 16S rRNA遺伝子を検出した結果、*O. moubata*第3若ダニの全てから見出された。増幅されたDNA copy数はおよそ 10^2 - 10^3 copies/個体(最大約 10^6 copies/個体)と算出され、*B. duttonii*が*O. moubata*第3若ダニに定着していることが示唆された(Fig. 2)。



Fig. 2 *B. duttonii* 16S rRNA gene in *O. moubata* by Real-time PCR

以上の結果から、吸血時に全ての*O. moubata*が*B. duttonii*を獲得し、経発育期感染することが実証された。

(3) 経発育期感染した*O. moubata*が、次の発育期に移行するために刺咬・吸血するタイミングで*B. duttonii*を宿主に吐出、かつ感染を成立させるために、マウスへの*B. duttonii*感染試験を実施した。

*O. moubata*第2若ダニに*B. duttonii*を獲得させ、経発育した第3若ダニをC3H/HeNマウスの背部で刺咬・吸血させた。吸血後1日目、3日目にマウス尾静脈から採血し、吸

	<p>血後 7 日目に脾臓, 肝臓, ならびに血液を採取した. Real time-PCR 法により, 全ての臓器および血液の DNA サンプルから <i>B. duttonii</i> 16S rRNA 遺伝子は検出されなかった. さらに, Western Blot 法により吸血後 7 日目の血液から分離された血清からの <i>B. duttonii</i> 抗体も検出されなかった.</p> <p>以上の結果から, 刺咬・吸血時に <i>O. moubata</i> からマウスへ <i>B. duttonii</i> の吐出, かつ感染は認められなかった.</p> <p>【まとめと考察】</p> <p>人工吸血法によって, <i>O. moubata</i> は吸血時に <i>B. duttonii</i> を獲得し, かつ経発育期感染が成立することが確認された. しかしながら, 吸血後に脱皮させた <i>O. moubata</i> からマウスへ, ボレリアの伝播は見られなかった. 本結果から, ボレリアは <i>O. moubata</i> の唾液腺まで到達できなかった可能性, もしくは, ボレリアは唾液腺まで到達できたが, 何らかの理由により, 唾液中に吐出されなかった可能性が考えられた. 今後の検討課題として, まず, 経発育期感染した <i>O. moubata</i> の体内で <i>B. duttonii</i> が唾液腺へ確実に侵入・生着できたかを確認する予定である. また, 他の回帰熱群ボレリアでは, 第 3 から 5 ないし 6 若ダニ期, および成ダニ期の病原体伝播や発育時に吸血回数を増やすことで唾液腺への侵入効率が高まる可能性もあることから, 実験に適切なダニ発育期の選択, ならびに, 人工吸血の回数や獲得させる病原体数を検討する.</p>
<p>研究成果の 発 表</p>	<p>なし</p>

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月28日

採択番号	2024 共同-11		
研究部門	創薬研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	西川 義文
研究課題名	抗アピコンプレキサ剤の分子標的における <i>in vitro</i> 再構成系および創薬基盤の創世		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	にへい こういち 二瓶 浩一	(公財)微生物化学研究会微生物化学研究所・定年制研究員 研究総括と実験の実施	
研究分担者	いがらし まさゆき 五十嵐 雅之	(公財)微生物化学研究会微生物化学研究所・部長 化合物生産菌プロスおよび化合物ライブラリー資源の開発	
	にしかわ よしふみ 西川 義文	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授 (役割分担)原虫サンプル調製, 抗原虫活性の検証	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>トキソプラズマは、世界人口の1/3以上が感染していると推定されている。その感染により、流産、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おいて回避できない問題となっている。さらに、畜産業界において、アピコンプレキサ原虫他、原虫感染症による家畜の生産性の低下が国内外で問題視され、経済的損失は大きく、地球規模での被害額は年間約数千億円にのぼるとの試算もある(Reichel et al. <i>Int J Parasitol.</i> 2012)。一方、世界三大感染症のマラリアは、世界で年間3~5億人が罹患し、その内約200万人もの命を奪い、コロナ禍に影響されることなく医学分野で重要な疾患である。我々は、有効な抗原虫薬を開発するために、当研究所で分離した放線菌、糸状菌由来の天然物を中心に化合物のライブラリー化を進めている。その成果として、トキソプラズマおよびマラリアモデルに対して有効な治癒効果を示す MCF を初めとする原虫薬候補化合物を西川義文教授と共同で発見している。我々は、MCF の作用機序解析から原虫の小胞体を含む分泌経路が有効な標的の一つであることを突き止めている。しかしながら、原虫の分泌経路における小胞輸送の分子レベルでの実体について未だ解っていない点が多い。</p> <p>本研究は、MCF の標的および作用機序を中心に抗原虫活性を示すライブラリー化合物の作用機構を解明することを目的とし、優れた原虫創薬の基盤構築に繋げる。</p>		
研究経過の概要	<p>これまでに、われわれは原虫薬開発に適した天然化合物ライブラリーの構築を行い、トキソプラズマ感染マウスに対する優れた治癒効果を示す MCF を発見した。さらに、MCF は抗ネオスポラ、抗マラリア活性を示すことも確認した。一方、マラリア原虫に高い抗原虫活性を示す M1 アミノペプチダーゼ阻害剤 PBT を見出した。PBT は、MCF 同様にペプ</p>		

	<p>チド由来の天然化合物である. PBT はトキソプラズマに対して有効な抗原虫活性を示さなかったが, 重症化マラリア感染モデルに対して有効な抗原虫作用を示した. 従って, PBTは, マラリア原虫のアミノペプチダーゼにより特異的に作用することが考えられ, 今後の抗マラリア薬のリード化合物候補として期待が持てる (Ariefta NR et al. AAC. 2023).</p> <p>われわれは, MCF の原虫に対する有効な作用点の一つが輸送系, ストレス応答に関わる小胞体の機能であることをこれまでに示してきた. しかしながら未だ分子レベルでの証明に至っていない.</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p>抗原虫剤 MCF の抗原虫作用において, われわれのトランスクリプトーム解析から原虫の小胞体含む分泌経路に作用している可能性を示し, 特に, 原虫の小胞体におけるストレス応答機構, Sar1GTPase により形成する COPII 小胞, さらに, その小胞輸送経路を経由すると考えられる各エフェクター, アミノペプチダーゼなどの分泌カーゴも標的となる結果が得られた. しかし, 原虫で Sar1GTPase を活性化するシステムの実体が未だ分かっていないのが現状でもあった. したがって, その解明は, 新たな分子標的の開発につながり, 新たな創薬研究の発展に重要である.</p> <p>われわれは, 昨年度までに MCF 作用点と考えられるトキソプラズマ原虫の小胞体, ゴルジ体周辺オルガネラを共焦点顕微鏡によるマーカー分子の間接蛍光抗体法で可視化した原虫以外の生物で既知の Sar1 の活性化に働く Sar1GEF の配列を基にトキソプラズマゲノム DB から探索したところ, Sec7, WD, 膜貫通ドメインを持つ因子を 1 コピー存在することを見出した. その Sar1GEF 様の因子は, トキソプラズマ以外にネオスポラ, クリプトスポリデウムなど一部のアピコンプレクサ門原虫のみに保存されていた. その配列上の特徴として, 内腔側の C 末端に小胞体残留モチーフ KDEL 配列を持ち, 配列全体の中で Cys 残基に富んでおり, 細胞質側可溶性ドメインの膜貫通ドメイン TMD の直前に Cys リピートドメインを持ち, TMD 内にも存在する. さらに, トキソプラズマ Sar1GEF は, Sar1GTPase と同様, MCF の作用標的であることが分かってきた. この Sar1GEF に対する抗体を作製し, 細胞内局在解析を行った. トキソプラズマにおいて, KDEL レセプターの Erd2 が2コピー存在し, 一方とドット状の共局在性を示すことを確認した. これらの結果は, Sar1GEF の KDEL が小胞体およびゴルジ体間の局在またはソーティングに機能的働くことを示唆する結果でもあった.</p> <p>本年度は, その結果を踏まえ原虫の小胞体の pre-budding complex 形成を触媒する Sar1GTPase と Sar1GEF との間の生体内の素反応の再構成系の構築を行った. Sar1GTPase のドメイン構造と機能性を確認するために酵母変異株を用いた相補性試験を行った. その結果, 宿主側の Sar1GEF と異なり, トキソプラズマ由来は, Cys リピートドメインが生理的に重要であることを確認した. さらに, 酵母内では, KDEL シグナルに依存せずに機能性を示すことを確認した. トキソプラズマ Sar1GEF のアミノ酸配列の特徴から大腸菌を用いたリコンビナントタンパク質の調製が困難と判断し, コムギ胚を利用する <i>in vitro</i> 翻訳システムを用いて系の構築を進めた. 一方, Sar1 は双方の系で発現と精製を行った. その結果, タンパク質は発現したものの, 発現量が少なく, 精製に至らなかった. 今後は, 系のスケールアップを実施し, 精製因子を得る予定である. Sar1 と Sar1GEF との複合体形成を確認する為に, AlphaFold3, MCF と複合体との結合を Bolz_on_Colab.を用いて立体構造の計算予測解析を行った. その結果, Sar1GEF は基質となる Sar1GDP と複合体形成することを確認した. 原虫由来の複合体形成は, 既存の Sar1GEF の K ループに依存した Sar1 への結合とは異なる様式であることが明らか</p>

	かとなった。さらに、MCF が宿主由来 SarGEF には存在しない C399 含む Cys リポドメインとその立体的近傍の R242 と 345, C309 に架橋されていた。この結果は、MCF の宿主に毒性を示さずに原虫特異的に活性を示す要因の1つと考えられた。
研究成果の 発 表	<ol style="list-style-type: none"> 1. Leessombun A, Iijima M, Umeda K, Kondoh D, Pagmadulam B, Abdou AM, Suzuki Y, Ohba SI, Isshiki K, Kimura T, Kubota Y, Sawa R, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Metacytofilin is a potent therapeutic drug candidate for toxoplasmosis. <i>J Infect Dis.</i> 221 (5).pp764-776. doi: 10.1093/infdis/jiz501. 2020. 2. Leesombun A, Iijima M, Pagmadulam B, Orkhon B, Doi H, Sawa R, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Metacytofilin has potent anti-malarial activity. <i>Parasitol Int.</i> 2021 81, 102267. doi:10.1016/parint.2020.102267. 2021. 3. <u>Nihei C</u>, Nakanishi M. Cargo selection in the early secretory pathway of African trypanosomes. <i>Parasitol Int.</i> 84, 102379. doi: 10.1016/j.parint.2021.102379. 2021. 4. Leessombun A, Kondoh D, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Polyether ionophore kijimicin inhibits growth of <i>Toxoplasma gondii</i> and controls acute toxoplasmosis in mice. <i>Parasitol Res.</i> doi: 10.1007/s00436-021-07363-w. 2021. 5. Ariefta NR, Pagmadulam B, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Sparsomycin Exhibits Potent Antiplasmodial Activity In Vitro and In Vivo. <i>Pharmaceutics.</i> 14(3):544. doi: 10.3390/pharmaceutics14030544. 2022. 6. Ariefta NR, Pagmadulam B, Hatano M, Ikeda N, Issiki K, Matoba K, Igarashi M, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Antiplasmodial Activity Evaluations of a Bestatin-related Aminopeptidase Inhibitor, Phebestin. <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy.</i> 67 (7):1-14. 2023. 7. Chen Y, Shimoda N, <u>Nihei C</u>, Sawa R, Nishigori M, Nakamura M, Koshiba T, Ushio N, Nishikawa Y. Mitochondrial damage and IL-18 production of monocytes by <i>Neospora caninum</i> infection is mediated by dense granule protein 7 and prohibitins. <i>Frontiers in Immunology.</i> 2024. <i>in revision.</i>

NRCPD-OUAVM Joint Research Report

Date: 2025.5.26

Project no: 2024-joint-12

1. Principal investigator

Name: Dr. Ruenruetai Udonsom

Position: Scientist Expert Level

Affiliation: Protozoology Department, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Ratchawithi Road, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand

2. Project title:

Molecular detection and genotyping of *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp and *Giardia duodenalis* in domestic animals and wildlife in Thailand

3. Collaborating research group members at NRCPD

Name: Professor Yoshifumi Nishikawa

Position: Professor

4. Research period (in mm/dd/yyyy, and total number of years)

April 1, 2024 to March 31, 2025 (1 year).

5. Purposes and objectives

5.1 This study is to determine the presence and genetic diversity of *T. gondii* infection in cats in Thailand

5.2 To determine *Cryptosporidium* spp and *Giardia duodenalis* infection among domestic animals, including pigs, cats, cattle, and wildlife in Thailand.

6. Outline of research process

Domestic animals such as cattle or pig and several wildlife species are parasitized by *Giardia* and *Cryptosporidium*, and have been considered reservoirs of zoonotic disease. Cats, definitive hosts for *T. gondii*. *T. gondii* oocysts from infected cat can infect human and animals through the environment, including in contaminated foods, water or soil. Therefore, this study the animal stool samples were collected from 61 cattle, 67 pigs, and 175 wildlife specimens from Ayutthaya and Kanchanaburi province and 120 cat stool samples from the refuge at Nakorn Nayok province Thailand for *T. gondii*, *Giardia* and *Cryptosporidium* detection. Ayutthaya province is located in central Thailand which it is a semi-

urban community. Villagers living along the river, namely Chao Phraya River, use the water for agriculture, farming, and transportation. The human activities may produce and discharge waste into water resources, including canals. These characteristics of this area may be suitable for zoonotic risk study. Kanchanaburi is the largest of the western provinces of Thailand. Topographically, it is covered with timber and evergreen forests and has the large numbers of wild animals which can be serve as reservoirs for transmission of zoonotic agents to domestic animals and human. The refuge in Nakhon Nayok province, Thailand is one of the large homes for abandoned of stray cats. Although, cats are potential reservoirs of zoonotic infections to humans and little data exists on the environment and *T. gondii* genotypes in Thailand. **Methods**, *Cryptosporidium* spp and *G. duodenalis* in pigs, cats, cattle and wild-life infection were determined using nested-PCR. The genotype of the pathogens was identified by DNA sequencing of the PCR products. For *T. gondii* detection in cat stool samples were examined using conventional PCR and *T. gondii* isolates were analyzed by multiplex nested PCR-RFLP analysis and DNA sequencing. The results will provide preliminary information of zoonotic protozoan parasites circulating in the study areas which could help to increase our understanding of host-parasite relationships.

7. Outline of research achievements

This research is divided into two objectives as described above.

Firstly, overall, 10.8% (13/120) of the samples tested positive for *T. gondii* infection by conventional PCR using *B1* gene. Of these, eight samples were isolated in Nakhon Nayok province, and five samples were isolated in Kanchanaburi province. All 13 positive samples had 92.94%–100% similarity with *T. gondii* reference sequences in the GenBank database. Using Mn-PCR-RFLP typing, four positive samples were successfully genotyped using at least four genetic markers. For one sample, amplification was successful for eight markers: SAG1, (5' + 3')-SAG2, alt.SAG2, SAG3, GRA6, C22-8, C29-2, and L358. Amplification was achieved for four markers, namely SAG1, (5' + 3')-SAG2, alt.SAG2, and SAG3, for another sample. Amplification for six markers (alt.SAG2, SAG3, GRA6, C22-8, C29-2, and L358) was observed for two samples. Genotyping for *T. gondii* of the positive samples revealed the presence of types I (two samples) and III (one sample) in Kanchanaburi province, whereas one sample from Nakorn Nayok province was isolated as type II. The manuscript of this work is now “under review” process.

Secondly, *Cryptosporidium* spp. was detected in 12 of 67 pig samples and there was no positive in other animals. For *G. duodenalis* was detected in 4 samples of pig, 2 samples of cat and 8 samples of wildlife. DNA sequencing for genotypes identification is in progress. *Cryptosporidium* spp. and *G. duodenalis* detection in animals are summarized in Table 1. **(If the results of DNA sequencing are satisfied, the manuscript will be prepared for publication).**

Pathogens	Infected animals	No. of positive/ No. of samples
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Pig	12/67
<i>G. duodenalis</i>	Pig	4/67
	Cat	2/80
	wildlife	8/175

8. Publication of research achievements

Manuscript for the detection and genetic characterization of *T. gondii* infection in cats in Thailand is submitted to Heliyon journal (SJR; Q1) on 12 March 2025 and is now “under review” process (Manuscript Number: HELIYON-D-25-04115).

NRCPD-OUAVM Joint Research Report

Date: 2025.5.28

Project no: 2024-joint-13

1. Principal investigator

Name: Berdikulov Atabek

Position: Researcher

Affiliation: Kyrgyz Research Institute of Veterinary Named After A. Duisheev, Togolok-Moldo 60, Bishkek 720033, Kyrgyzstan

2. Project title:

Identification of tick vectors, including novel and genotype-specific species, that transmit *Theileria equi* and *Babesia caballi*

3. Collaborating research group members at NRCPD

Name: Naoaki Yokoyama

Position: Professor (WOAH expert for equine piroplasmosis)

4. Research period (in mm/dd/yyyy, and total number of years)

04/01/2024 – 03/31/2025, one year

5. Purposes and objectives

Equine piroplasmosis, a leading cause of economic losses in the horse industry, is an infectious disease caused by *Theileria equi* and *Babesia caballi*. Implementing a systematic strategy for tick control, with a focus on specific tick vectors, is crucial for effectively managing equine piroplasmosis. The efficacy of these strategies could be improved by addressing potential new tick vectors and those that transmit the virulent parasite genotypes in endemic countries. Our recent study revealed the prevalence of *T. equi* and *B. caballi* infections among horses in Kyrgyzstan. However, the specific tick vectors transmitting these parasites remain unknown. Therefore, the objectives of this study were to 1) identify specific tick vectors, including potentially novel ones, involved in the transmission of *T. equi* and *B. caballi* in Kyrgyzstan and 2) determine the tick vectors responsible for transmitting the specific parasite genotypes.

6. Outline of research process

Questing ticks were collected from the pastures and vegetation around the horse farms, where our recent study identified *T. equi* and *B. caballi*-positive horses, throughout Kyrgyzstan. The collected

ticks preserved in ethanol and transferred to NRCPD, where they were subjected to species identification based on morphological keys and then to DNA extraction. All of the tick DNA samples were initially screened with specific PCR assays for detecting *T. equi* and *B. caballi*, to identify specific tick vectors transmitting these parasite species. To investigate if the transmission vectors are genotype-specific, positive samples are undergoing further analysis using PCR assays developed at NRCPD that specifically target *T. equi* and *B. caballi* genotypes. Selected PCR amplicons will be sequenced, and the obtained sequences will undergo phylogenetic analyses to validate the findings.

7. Outline of research achievements

We collected a total of 394 questing ticks were using a flagging method from six of seven Kyrgyz provinces, including 69 in Batken, three in Osh, 219 in Jalal-Abad, 21 in Talas, 77 in Chuy, and five in Issyk-Kul. Among them, 329 were adults, two were nymphs, and 63 were larvae. Morphological identification classified the adult ticks into seven species: *Haemaphysalis punctata* (n=318), *H. sulcata* (n=2), *Rhipicephalus sanguineus* (n=2), *Hyalomma dromedarii* (n=2), *H. rufipes* (n=1), *Dermacentor marginatus* (n=3), and *D. silvarum* (n=1). The two nymphs were identified as *H. punctata*. The morphological identification of tick species was confirmed by analysis of *cox1* gene sequences of tick origin. Subsequently, all tick DNA samples were screened with specific PCR assays for detecting *T. equi* and *B. caballi*. The PCR-positive samples are currently being screened with genotypic-specific PCRs, followed by sequencing analyses to verify the findings.

8. Publication of research achievements

Upon completion of this study, a manuscript summarized the findings will be submitted to a peer-reviewed scientific journal.

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月2日

採択番号	2024 共同-14		
研究部門	国際連携協力部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	玄 学南
研究課題名	トキソプラズマの保有する2つのアクアポリン分子が関与する病原性発現機構		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	まさたに たつのり 正谷 達膳	岐阜大学応用生物科学部・准教授	
研究分担者			
	げん がくなん 玄 学南	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>アクアポリン(Aquaporin, AQP)は水輸送に関わる分子であり、哺乳類だけでなく植物や真菌にも保存され、近年では種々の病原性原虫においても同定されている。<i>Plasmodium berghei</i>において、AQP欠損原虫のマウスに対する病原性が有意に減弱したことから(Promeneur et al., PNAS, 2007)、病原性における機能も注目されている。トキソプラズマにおいても AQP (TgAQP1)は同定されており、水輸送に関わることが示されている(Pavlovic-Djuranovic et al., FEBS Lett., 2003)。さらに、TgAQP2と予測される遺伝子もデータベースに登録されている。しかし、これらの病原性に対する役割は不明である。申請者は昨年度までの共同研究により、TgAQP1とTgAQP2のそれぞれのノックアウト原虫株(ΔTgAQP1株、ΔTgAQP2株)の病原性がやや減弱した程度であったのに対し、両方の AQP をノックアウトしたダブルノックアウト原虫(ΔTgAQP1 ΔTgAQP2株)の病原性が顕著に減弱することを見出した。今年度の研究では、そのメカニズムを解明することを目的とする。</p>		
研究経過の概要	<p>実験1 親株である Pru ΔKu80 株、ΔTgAQP1 株、ΔTgAQP2 株およびダブルノックアウト株である ΔTgAQP1 ΔTgAQP2 株を 1000 個、24 ウェルプレートに培養した HFF 細胞に接種した。10 日後に固定し、クリスタルバイオレットで細胞を染色しプラーク形成能を比較した。</p> <p>実験2 親株である Pru ΔKu80 株、ΔTgAQP1 株、ΔTgAQP2 株およびダブルノックアウト株である ΔTgAQP1 ΔTgAQP2 株を 24 ウェルプレートに培養した HFF 細胞に接種した。</p>		

	<p>接種 1 時間後に細胞を洗浄し、界面活性剤で膜透過処理したのち原虫を蛍光免疫染色によって可視化した。寄生胞内における原虫数を計数することで、分裂能を評価した。</p>																									
<p>研究成果の概要</p>	<p>実験 1 プラーク形成能を比較したところ、いずれの KO 株もそのプラーク形成能は親株と同等であった(右図 A)。すなわち、AQP はトキソプラズマの細胞障害性には大きく関わらない可能性が示された。</p> <p>実験 2 感染細胞内(寄生胞内)における各 KO 株の分裂能を比較したところ、寄生胞内に内包される原虫数の割合はいずれの株も同等であった。すなわち、AQP は原虫の分裂能にも大きく関与しない可能性が示された。</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="842 309 1396 672"> <p>A</p> </div> <div data-bbox="849 672 1396 1131"> <p>B</p> <table border="1"> <caption>Parasite number / vacuole distribution</caption> <thead> <tr> <th>Strain</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>4</th> <th>8</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PruΔKu80</td> <td>~85%</td> <td>~10%</td> <td>~5%</td> <td>~0%</td> </tr> <tr> <td>PruΔAQP1</td> <td>~85%</td> <td>~10%</td> <td>~5%</td> <td>~0%</td> </tr> <tr> <td>PruΔAQP2</td> <td>~85%</td> <td>~10%</td> <td>~5%</td> <td>~0%</td> </tr> <tr> <td>PruΔAQP1ΔAQP2</td> <td>~85%</td> <td>~10%</td> <td>~5%</td> <td>~0%</td> </tr> </tbody> </table> </div> </div>	Strain	1	2	4	8	PruΔKu80	~85%	~10%	~5%	~0%	PruΔAQP1	~85%	~10%	~5%	~0%	PruΔAQP2	~85%	~10%	~5%	~0%	PruΔAQP1ΔAQP2	~85%	~10%	~5%	~0%
Strain	1	2	4	8																						
PruΔKu80	~85%	~10%	~5%	~0%																						
PruΔAQP1	~85%	~10%	~5%	~0%																						
PruΔAQP2	~85%	~10%	~5%	~0%																						
PruΔAQP1ΔAQP2	~85%	~10%	~5%	~0%																						
<p>研究成果の発表</p>	<p>Tatsunori Masatani, Taizo Saito, Maho R. Takahashi, Misuzu Okajima, Xuenan Xuan, Naoto Ito. Investigation of the involvement of Toxoplasma Aquaporin 1 and Aquaporin 2 in the pathogenicity of mice 投稿準備中</p>																									

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月30日

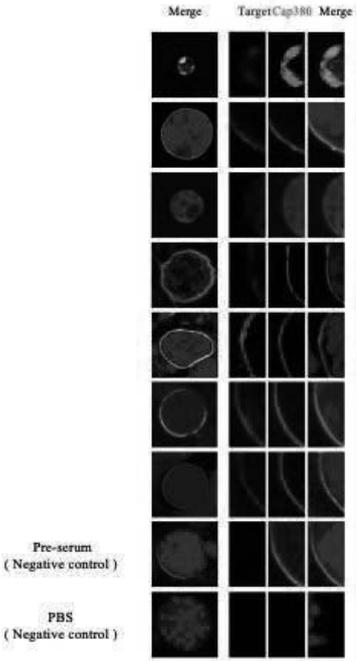
採択番号	2024 共同-15		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	マラリア原虫 <i>Brca2</i> のスポロゾイト形成における機能の解明		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	よしかわ やすなが 吉川 泰永	北里大学獣医学部・准教授・研究総括	
研究分担者			
	ふくもと しんや 福本 晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授 (役割分担) マラリア原虫の遺伝子発現操作	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>我々はネズミマラリア原虫(<i>Plasmodium berghei</i>)において相同組換えに貢献する <i>Brca2</i> のノックアウト原虫を作製した。<i>Brca2</i> のノックアウト原虫では、赤内型原虫の増殖率とガメートサイト形成率が減少した。さらにノックアウト原虫において雌ガメートサイトへの分化が抑制され、オーカイネート形成数とオーシスト形成数が減少した。特にスポロゾイトが無形成であり、<i>Brca2</i> はネズミマラリア原虫の生活環の維持、特にスポロゾイト形成に必須であることを示した。本研究では、マラリア原虫のスポロゾイト形成に <i>Brca2</i> がどのように貢献しているのか解明することを一つの目的とした。さらにマラリア原虫 <i>Brca2</i> の <i>in vitro</i> の機能解析は全く報告されていない。マラリア原虫 <i>Brca2</i> の分子メカニズムの解明を目指して、<i>in vitro</i> の実験系により DNA との相互作用を解析することも試みる。</p>		
研究経過の概要	<p>貴研究センターの福本先生から分与いただいた EGFP を発現するネズミマラリア原虫 (<i>Plasmodium berghei</i>) に <i>Brca2</i> のアミノ酸配列の一部を強制発現するマラリア原虫の作製を試みている。また、<i>in vitro</i> の実験を行うために <i>Brca2</i> のアミノ酸配列の一部を組換えタンパク質として大腸菌を用いて精製することを試みた。</p> <p>9月に貴研究センターを訪問した際に福本先生と研究内容についてディスカッションを行った。さらに、適宜、メールによるディスカッションを行い、共同研究を遂行した。</p>		
研究成果の概要	<p><i>Brca2</i> の一部のドメインを強制発現させることでドミナントネガティブ効果を調べるために EGFP 発現ネズミマラリア原虫における強制発現実験を行った。共同研究者の福本先生のアドバイスを得つつ、実験を行っているが、残念ながら現在までに組換えマラリア原虫の作出には至っていない。</p> <p><i>Brca2</i> の機能ドメインのリコンビナントタンパク質を解析する実験系において、大腸菌における発現ベクターに <i>Brca2</i> の DNA 結合ドメインをコードする領域をクローニングした。</p>		

	<p>このベクターを用いて、<i>Brca2</i> の DNA 結合領域を His タグ融合タンパク質として発現させることを試みた。大腸菌において <i>Brca2</i> の DNA 結合ドメインを強制発現し、His タグ融合タンパク質を精製できることを確認した。しかしながら、タンパク質の収量が非常に少なく、<i>in vitro</i> の実験に用いるだけのタンパク質量を得ることが出来ていない。これは、大腸菌破碎後に不溶性画分に多くの組換えタンパク質が存在しているためであることが予想されている。そこで、現在、可溶性画分における組換えタンパク質量を増加させるために大腸菌にシャペロン遺伝子を導入して、精製を試みている。今後、組換えタンパク質を精製し、様々なタイプの DNA との相互作用を解析する予定である。</p>
<p>研究成果の 発表</p>	<p>本研究課題に関わる成果発表は未だ行っておりません。</p>

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年4月28日

採択番号	2024 共同-16		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	マラリア原虫オーシスト形成・分化に関する分子機構の解明： 壁構成蛋白質の探索から		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	いかだい ひろみ 筏井 宏実	北里大学獣医学部・教授	
研究分担者			
	ふくもと しんや 福本 晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリア原虫はオーシスト形成時に媒介蚊と相互作用する事により、オーシスト壁という特殊な構造物を形成する。</p> <p>本研究は、マラリア原虫のオーシスト形成・分化に関する分子機構の解明を目的とし、オーシスト形成期における、①オーシスト壁構成蛋白質の探索、②それらオーシスト壁構成蛋白質の発現動態および機能解析、③原虫オーシスト形成期のトランスクリプトーム解析、④オーシスト形成抑制ワクチン抗原への応用検討を行なう。</p>		
研究経過の概要	<p>ハマダラカがマラリア原虫の感染を受けるオーカイネートからオーシスト形成期は原虫数が最も減少し、原虫感染に対して重要な防御免疫応答を起こす時期である。媒介蚊体内における原虫オーシスト形成期に関する生物学的特徴を明らかにするため、以下の検討を実施した。</p> <p>申請者は媒介蚊に GFP 発現マラリア原虫のオーカイネートをマイクロインジェクションすることによりオーシスト感染モデルを作製した。このモデルは感染後成熟期(感染 10-15日)のオーシストを蚊の中腸細胞を含めずに GFP 蛍光を確認しながら容易に単離回収できる特徴がある。</p> <p>単離回収オーシストの壁構成蛋白質の探索のため粗精製したオーシスト壁蛋白質画分を用いて、LC-MS/MS によるショットガンプロテオミクス解析を実施した。その結果、オーシスト壁に存在する壁構成蛋白質および輸送タンパク質の候補が複数得られた。これらの候補タンパク質について、ペプチド抗体を作製し、免疫蛍光抗体法および共焦点レーザー顕微鏡を用いてその局在を確認した。</p>		

<p>研究成果の概要</p>	<p>媒介蚊にマラリア原虫オーキネートをマイクロインジェクションすることにより感染モデルを作製した。このモデルは感染後成熟期(感染 10-15 日)のオーシストを蚊の中腸細胞を含めずに GFP 蛍光を確認しながら容易に単離回収できる特徴がある。さらに、本感染により形成されたオーシスト内のスポロゾイトは正常に分化・発育していることも確認された。</p> <p>オーシスト壁の多くは不溶化すると考えられることから、2000 個のオーシスト内の可溶化成分除去を凍結融解により行ない、この粗精製したオーシスト壁蛋白質画分を用いて、LC-MS/MS によるショットガンプロテオミクス解析を網羅的に実施し、オーシスト壁構成蛋白質の同定を試みた。197 種の原虫蛋白質が得られ、GO 解析、SOSUI 解析、Probability 75%以上など選別を行った。</p> <p>本解析結果には、既知のオーシスト壁の表面蛋白質 PbCap380 および構成蛋白質 CSP が含まれていることを確認し、最終的に 5 種のトランスポーター蛋白質と 4 種の新規オーシスト壁構成蛋白質の情報が得られた。</p> <p>これら 9 種タンパク質について抗血清を作成し、共焦点レーザー顕微鏡によりオーシストにおける局在解析を実施した(右図)。並行して発現動態解析のための KO 原虫作成等、順次研究を進めている。</p> 
<p>研究成果の発表</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nakayama, K., Haraguchi, A., Hakozaiki, J., Nakamura, S., Kusakisako, K., Ikadai, H.* 2024. The C-terminal region of the <i>Plasmodium berghei</i> gamete surface 184-kDa protein Pb184 contributes to fertilization and male gamete binding to the residual body. <i>Parasit. Vectors</i> 17: 304. 2. Haraguchi, A., Takano, M., Fujiwara, K., Hakozaiki, J., Nakayama, K., Nakamura, S., Yoshikawa, Y., Fukumoto, S., Kusakisako, K., Ikadai, H.* 2024. Searching for new molecules involved in <i>Anopheles</i> mosquitoes' response to <i>Plasmodium</i> infection. <i>J. Vet. Med. Sci.</i> 86: 485-492. 3. Haraguchi, A., Takano, M., Hakozaiki, J., Nakayama, K., Nakamura, S., Yoshikawa, Y., Fukumoto, S., Kusakisako, K., Ikadai, H.* 2023. Formation of free oocysts in <i>Anopheles</i> mosquitoes injected with <i>Plasmodium</i> ookinetes. <i>J. Vet. Med. Sci.</i> 85: 921-928. 4. Haraguchi, A., Gonda, M., Nakayama, K., Fujiwara, K., Hakozaiki, J., Nakamura, S., Kusakisako, K., Ikadai, H.* 2024. Effect of a bloodmeal on <i>Plasmodium</i> oocyst growth using the enema-injection method. <i>Vector Borne Zoonotic Dis.</i> in press. 5. Boonyakida, J., Nakayama, K., Kusakisako, K., Ikadai, H., Park, E.Y. 2024. Dual display of <i>Plasmodium yoelii</i> circumsporozoite surface protein and merozoite surface protein-1 on norovirus-like particles. <i>Bioconjug. Chem.</i> 35: 1933-1943.

- | | |
|--|--|
| | <p>6. Obayashi, M., Kimura, M., Haraguchi, A., Gotanda, M., Kitagawa, T., Matsuno, M., Sakao, K., Hamanaka, D., Kusakisako, K., Kameda, T., Ibrahim, H. R., Ikadai, H.*, Miyata, T.* 2024. Bovine lactoferrin inhibits <i>Plasmodium berghei</i> growth by binding to heme. <i>Sci. Rep.</i> 14: 20344.</p> |
|--|--|

NRCPD-OUAVM Joint Research Report

Date: 2025.5.27

Project no: 2024-joint-17

1. Principal investigator

Name: Kishor Pandey

Position: Associate Professor

Affiliation: Central Department of Zoology, Tribhuvan University, Institute of Science and Technology, Kathmandu, Nepal

2. Project title:

Molecular detection of tick-borne pathogens in Cattle from Kathmandu, Nepal

3. Collaborating research group members at NRCPD

Name: Masahito Asada

Position: Associate Professor

4. Research period (in mm/dd/yyyy, and total number of years)

04/01/2024 – 03/31/2025, one year

5. Purposes and objectives

The purpose of this study is to investigate the presence and distribution of tick-borne pathogens (TBPs) mainly *Babesia* and *Theileria* species in cattle within Dolakha District, Nepal. TBPs pose a significant threat to livestock health and productivity, particularly in rural areas where veterinary resources may be limited. The objective of the study is to utilize molecular techniques to detect and identify the TBPs transmitted by ticks affecting cattle in this region. This research aims to provide baseline data that can support effective disease management strategies, improve animal health, and contribute to the development of targeted control and prevention programs in Nepal.

6. Outline of research process

The study was conducted at Cattle Genetic Resource Centre (CGRC) which is situated at the Jiri Valley, Dolakha district, Nepal at altitude of 1935 meters above sea level. The study area is located in the Himalayan region which has a cooler climate and diverse topography, which influences tick infestation and disease prevalence. These cattle graze on open pasture land near the CGRC. The blood samples were collected from each cattle in sterile conditions. Three ml blood was taken from jugular vein of each cattle. Thin blood smears were prepared, fixed with methanol, and stained with Giemsa. The smears were observed under a microscope for the detection of TBPs. DNA was extracted from

each blood sample and subjected to PCR analysis to detect the presence of specific TBPs. Positive samples will be further analyzed through sequencing to confirm pathogen identity.

7. Outline of research achievements

The study was conducted to detect the types of tick-borne pathogens (TBPs) affecting cattle farm at himalayan region of Nepal, Nepal using molecular methods. A total of 80 blood samples were collected from cattle at CGRC, Dolakha, Nepal in year 2023 and 2024. Thin blood smears were prepared and observed under the microscope. DNA was extracted using commercial DNA extraction kit. PCR, cloning and sequencing were performed to detect and identify TBPs present in the collected samples. This study revealed that 66 (77.5%) were positive for piroplasm (*Babesia* spp. and *Theileria* spp.) via PCR. We were able to identify the species as *B. bigemina*, *B. bovis*, and *T. orientalis* by PCR followed by sequencing. The sequencing revealed distinct nucleotide sequences of *Babesia* in 42 samples. Specifically, *B. bovis* was seen in 20 samples and *B. bigemina* was seen in 22 samples. Similarly, 10 *T. orientalis* were seen in 10 samples. Thirteen samples were clone to see co-infection and result showed 2 samples showed *B. bovis* and *B. bigemina* co-infection. Similarly, one sample showed *B. bovis* and *T. orientalis*. The result is the first to detect co-infection of two parasites using sequencing of clone samples in Nepal.

In addition, the author has collaboration with Dr. Asada in other parasites and recently we published paper on canine demodicosis.

8. Publication of research achievements

Bhusal R, Gompo TR, Sugi T, **Asada M, Pandey K (2025)**. Canine Demodicosis in Rupandehi Nepal's Street Dogs: Prevalence, Clinical Signs, and Hematology. *Vet Sci.* 12(3):238. doi: 10.3390/vet-sci12030238.

Canine Demodicosis in Rupandehi Nepal's Street Dogs: Prevalence, Clinical Signs, and Hematology

Rachana Bhusal ¹, Tulsi Ram Gompo ², Tatsuki Sugi ³, Masahito Asada ⁴, Kishor Pandey ¹

Affiliations

Affiliations

- 1 Central Department of Zoology, Institute of Science and Technology, Tribhuvan University, Kathmandu 44601, Nepal.
- 2 Central Veterinary Laboratory, Kathmandu 44600, Nepal.
- 3 Division of Collaboration and Education, International Institute for Zoonosis Control, Hokkaido University, Sapporo 001-0020, Japan.
- 4 National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro 080-8555, Japan.

PMID: 40266949 PMCID: PMC11946785 DOI: 10.3390/vetsci12030238

Abstract

Canine demodicosis is a contagious skin disease caused by the over-proliferation of *Demodex* mites in the host's hair follicles. This study examines the prevalence, clinical signs, and hematological changes associated with demodicosis in street dogs of Rupandehi, Nepal. Between August 2023 and January 2024, 100 skin scrapings were collected from each street dog presenting dermatological symptoms.

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025 年 6 月 4 日

採択番号	2024 共同-18		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	北海道における海獣由来トキソプラズマの単離培養法の確立と全ゲノム解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	ひこさか けんじ 彦坂 健児	千葉大学大学院医学研究院感染生体防御学・准教授	
研究分担者	こばやし まり 小林 万里	東京農業大学生物産業学部・教授	
	ふくもと しんや 福本 晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024 年 4 月 1 日 ~ 2025 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p>海洋におけるトキソプラズマ感染の報告は、鰭脚類や鯨類などの海棲哺乳類、魚類、軟体動物及び甲殻類などで散見される。しかし、そのほとんどが抗体検査による疫学調査の報告であり、遺伝子型などの分子系統学的情報は極めて少ない。本研究の目的は、海棲哺乳類に寄生するトキソプラズマを分離培養することで、全ゲノム情報による系統解析及びマウス感染による病原性の評価を可能とし、海棲哺乳類に寄生する本原虫の感染動態を明らかにすることである。本研究の成果は、原虫生態系の情報は公衆衛生・野生動物保護対策の立案に貢献することが期待できる。</p>		
研究経過の概要	<p>昨年度は、襟裳に生息する 65 頭のゼニガタアザラシ試料を用い、以下を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ELISA によるゼニガタアザラシ血清中の抗トキソプラズマ抗体検出系の確立 2. PCR によるトキソプラズマ特異的 DNA 断片の検出 3. ゼニガタアザラシ心臓ホモジネートのマウスへの経口投与 <p>以上を実施し、ゼニガタアザラシ血清を用いた ELISA 法を確立した。また、トキソプラズマ特異的な PCR 増幅産物が 65 頭中 10 頭で検出されたが、マウスへの陽性個体心臓のホモジネート投与では感染が確認されなかった。以上より、今年度は、ELISA によるゼニガタアザラシのトキソプラズマ感染率の調査、マウス感染に向けたシスト保存温度と保存の検討などを行う必要があると考えられた。</p>		
研究成果の概要	<p>今年度は、襟裳の 115 頭分のゼニガタアザラシ試料を用いて解析を行った。結果と考察を以下に示す。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ELISA 法によるトキソプラズマ感染率の調査 <p>昨年度の本共同研究助成により確立した ELISA 法を用いた。ゼニガタアザラシの血清は、2023 年度に採取した 37 試料及び 2024 年度に採取した 60 試料を用いた。その</p>		

	<p>結果、計 97 試料のうち 6 試料が陽性であった(陽性率 6.2%)。北海道におけるゼニガタアザラシの血清を用いたトキソプラズマ感染の調査は 2007 年に報告がある(Fujii ら、<i>J Vet Med Sci</i>)。この報告では、2005 年の納沙布の調査で 77 頭中 3 頭が陽性であったが、襟裳では 1999 年(8 頭)、2003 年(15 頭)、2004 年(28 頭)、2005 年(24 頭)のいずれの年にもトキソプラズマ陽性個体が検出されていない。そのため、襟裳のゼニガタアザラシにトキソプラズマ感染が拡大している可能性もあり、今後も継続的な調査が必要であると考えられた。</p> <p><u>2. シストの保存条件の検討</u></p> <p>昨年度、トキソプラズマ PCR 陽性ゼニガタアザラシの心臓ホモジネートを用いたマウスへの感染実験を実施したが、感染マウスが確認されなかった。これより、ゼニガタアザラシより心臓を摘出した後の試料の保存方法がシストの感染能に影響を与えている可能性が考えられたため、シストの保存条件を検討した。トキソプラズマシストは、当研究室でマウスへの経口投与で継代を行っている脳ホモジネート中の Fukaya 株のシストを用いた。保存条件は、温度条件 4℃もしくは室温、保存期間 1、2、3 及び 4 日間で検討した。通常、千葉大学で維持している Fukaya 株は、マウスへのシスト 10 個の経口投与で急性感染を引き起こし、投与後 14 日間以内でマウスが斃死する。上記の条件で保存したシストをマウスに経口投与したところ、室温、4℃の温度条件で 1、2、3 日間保存したシストでは 12 日以内のマウス斃死が確認された。これより、これらの条件では、シストの感染能が維持されているものと考えられた。一方、4 日間保存したシストを投与したマウスは生存したが、投与後 2 ヶ月に脳内においてシストが確認されたことから、感染能が低下したことが考えられた。以上の結果より、ゼニガタアザラシより採取した心臓試料にトキソプラズマシストが存在した場合、室温でも 4℃でも 3 日間は感染能を有していることが示唆された。この成果は、今後のトキソプラズマのゼニガタアザラシ分離株の確立に向けた実験に活用できる。</p> <p><u>3. ゼニガタアザラシの心臓ホモジネートを用いたマウスへの感染</u></p> <p>昨年度はホモジネートの経口投与のみで感染を試みたが、今年度は、経口投与と同時に腹腔内接種も実施した。また、上述の 2. で得られた結果をもとに心臓試料分離後 3 日以内にホモジネートを作成しマウスへの感染を実施したが、トキソプラズマの感染は確認されなかった。保存条件に問題がなかったとすると、ホモジネート作成に用いた心臓部位にシストが存在しなかった可能性があり、今後は、心臓試料の採取箇所の検討が必要と考えられた。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>なし</p>

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月21日

採択番号	2024 共同-19		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	菅沼 啓輔
研究課題名	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		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	なかお よういち 中尾 洋一	早稲田大学理工学術院・教授 研究統括、作用機序解析	
研究分担者	なかむら ふみあき 中村 文彬	早稲田大学大学院先進理工学研究科・招聘研究員 活性化化合物の精製・構造決定	
	あきづき こうた 秋月 孝太	早稲田大学大学院先進理工学研究科・修士2年 活性化化合物の精製・構造決定	
	さかもと ともひろ 坂本 知優	早稲田大学先進理工学部・4年 活性化化合物のプローブ化	
	すがぬま けいすけ 菅沼 啓輔	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>トリパノソーマ症に対する現行の治療薬は薬剤耐性株の出現や副作用などの問題が指摘されており、依然として新たな治療薬の開発が求められている。そこで本研究では抗トリパノソーマ活性化化合物の分子プローブ化による作用メカニズムの解明を行うことを目的とする。</p> <p>具体的には、抗トリパノソーマ活性を有することが知られている化合物の分子プローブ化を行う。得られたプローブを蛍光標識化して細胞内における化合物の局在を確認するとともに、プローブをビーズと結合させることで原虫抽出物からタンパク質のプルダウンを行い、解析することで標的タンパク質の推定を行う。</p> <p>研究代表者は研究分担者と協力して化合物の精製・分子プローブ化・作用メカニズム解明を担当し、貴センター菅沼啓輔准教授が活性試験を担当する。代表者の研究については一部を本共同研究経費により実施する。</p>		
研究経過の概要	<p>大島新曾根産 <i>Theonella</i> 属海綿(S07140)から <i>T. evansi</i> および <i>T. congolense</i> に対し強い活性(IC₅₀ = 0.60, 0.61 μg/mL)を示す新規アルカロイドが得られている。この化合物の作用メカニズム解明のために標的タンパク質の探索に用いるプローブ分子の合成を行った。合成したプローブを用いて、原虫抽出物からタンパク質のプルダウンを行い、LC-MS/MS 解析を行った結果、標的タンパク質の候補として6種類のタンパク質が推定された。</p> <p>一方、薬用植物として知られる春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> 内に含まれる抗トリパノソーマ活性化化合物 coronarin D についても、作用メカニズム解明のために標的タンパク質</p>		

	<p>の探索に用いるプローブ分子の合成を行った。合成したプローブを用いて、標的タンパク質の同定を目指し研究を進めている。</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p>大島新曾根産 <i>Theonella</i> 属海綿(S07140)から単離した新規アルカロイドについて、分子プローブを合成した。得られたプローブを蛍光標識化して化合物の細胞内局在を確認したのち、ビーズに結合させてトリパノソーマ原虫抽出物からのタンパク質のプルダウン実験を実施し、SDS-PAGE を行った。その後バンドを切り出し、LC-MS/MS 解析を行った結果、標的タンパク質の候補として 6 種類のタンパク質が同定された。今後はマウスを用いた <i>in vivo</i> 活性試験での評価を行うとともに、化学プローブを用いて再度タンパク質のプルダウン実験を行って再現性を確認する。また、並行してパスウェイ解析を行うことで化合物の作用メカニズムを検討する。</p> <p>また、埼玉産春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> 抽出物に含まれる抗トリパノソーマ活性化合物 coronarin D (IC₅₀=1.5 μM) について、分子プローブを合成した。得られたプローブをビーズに結合させ、トリパノソーマ原虫抽出物からのタンパク質のプルダウン実験を実施し、SDS-PAGE を行った。今後は MS/MS 解析によって標的タンパク質の同定を行ったのち、パスウェイ解析を行うことで化合物の作用メカニズム解明を目指す。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>1. 坂本知優, 菅沼啓輔, 大枝一喜, 中村文彬, 中尾洋一, 『抗トリパノソーマ活性化合物 coronarin D の分子プローブ化の検討』, 第 94 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2025 年 3 月</p>

令和7年8月8日発行

帯広畜産大学 原虫病研究センター

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線13番地

TEL (0155) 49-5642 (事務室)

FAX (0155) 49-5643



 帯広畜産大学 原虫病研究センター

〒080-8555 帯広市稲田町西2線13番地
TEL:0155-49-5642 FAX:0155-49-5643
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/>

