

二国間交流事業 共同研究報告書

令和6年4月6日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
帯広畜産大学・原虫病研究センター
[職・氏名]
教授・河津信一郎
[課題番号]
JPJSBP 120212501

1. 事業名 相手国: チェコ (振興会対応機関: CAS) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) DiCre/loxP システムを応用した遺伝子改変バベシア原虫の創出

(英文) Establishment of DiCre parasite lineages to study an essential aspartyl peptidase of *Babesia divergens*3. 共同研究実施期間 2021年4月1日 ～ 2024年3月31日 (03年00ヶ月)【延長前】 2021年4月1日 ～ 2023年3月31日 (02年00ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Czech Academy of Sciences, Institute of Parasitology, Biology Centre・
Independent Researcher (Principal Investigator)・SOJKA Daniel

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,750,000 円
内訳	1年度目執行経費	2,375,000 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	6名
相手国側参加者等	6名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0	0	()
2年度目	2	2	3(0)
3年度目	3	0	2(0)

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

ウシのバベシア症(ピロプラズマ病)は、慢性消耗性の健康被害をもたらす代表的な原虫感染症で、国内外の畜産業に多大な経済的損失を与えている。バベシア原虫は、マダニの吸血を介してウシからウシへと伝播し、ウシの体内では赤血球で増殖して発熱や貧血の原因となる。バベシア・ダイバージェンス(*Babesia divergens*)による高病原性ウシバベシア症は死亡率も高く、欧州の畜産国において大きな被害をもたらす代表的な放牧病となっている。また、欧州の一部地域では、このバベシア原虫の人体寄生例も報告されていて、*B. divergens* は人獣共通感染症(Zoonosis)病原体としても注目されている。高病原性ウシバベシア症が流行する国と地域では、放射線照射弱毒ワクチンの野外応用やアジュバント添加不活化ワクチンの開発が試みられているが、依然として効果的なワクチンの実用化に至っていないのが現状である。そこで本研究では、この問題を解決するために、帯広畜産大学原虫病研究センター(NRCPD)とチェコ科学アカデミーバイオロジーセンター・寄生虫学研究所(BC ASCR)双方の最新の知見と技術を融合して、十分な感染免疫を付与した後に死滅するよう、動物体内での増殖が制御可能な遺伝子改変原虫(GAP)ワクチンを作製することを目的とした。GAPワクチンを作製の基盤となる条件付き遺伝子発現誘導系(DiCre/loxPシステム)をバベシア原虫に応用するため、DiCreリコンビナーゼ導入バベシア原虫の作出に必要となるプラスミドベクターの作製を、日本とチェコ間でメールベースの協議を進めながら、BC ASCR で進めた。共同研究に係る実験および研究打ち合わせを行う目的で、令和4年8月と令和5年12月にチェコに研究代表者と研究参加者が渡航してBC ASCRを訪問した。また、令和5年10月から12月には、研究参加者(若手大学院生)1名がBC ASCRに2ヶ月間滞在して共同研究を展開した。一方、BC ASCRからも令和4年10月と令和5年10月に相手方研究代表者が来日して、共同研究の打ち合わせを行った。また、令和4年10月から12月に若手研究参加者2名(大学院生ならびにポスドク各1名)と令和5年10月から11月に若手研究参加者(大学院生)1名がNRCPDに滞在して共同研究を展開した。一連の共同研究の成果として、日本において*B. bovis*で確立されていた遺伝子組換え技術をチェコ側に移転することができ、また、各種の遺伝子組換え手法を両国にて*B. divergens*, *B. bovis*を使い実施することで、最適なトランスフェクション条件を得ることができた(2023年研究発表実績:Cubillos et al., 2023)。さらに共同研究を継続することで、DiCre/loxPシステムの確立を達成することを計画している。一方、これらの機会を通じて、日本側及び相手国側の若手研究者に、両国における先端研究活動の実際や研究組織の構築の違いについても総体的に体験する機会を提供することができた。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

現在の国内外における家畜原虫病ワクチンの研究においては、組換え体タンパク質を抗原とするサブユニットワクチンの開発研究が主流になっている。しかしながら、持続的かつ強固な免疫を賦与できるワクチン開発を目指した有効なワクチン抗原の探索研究が進んでいるものの、依然として効果的なワクチンの実用化に至っていないのが現状である。一方、マラリアやアフリカ睡眠病をはじめとするヒトの原虫病では、この問題を克服するため、遺伝子改変技術を駆使した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が精力的に進められている。今回の共同研究では、欧州に分布するバベシア症の生ワクチンにGAPの技術を応用することで、このZoonosisにもなり得る家畜感染症のリスクを取り去ることを目的としており、現行の家畜原虫病ワクチン研究のなかでも先進的かつ先駆的な研究と言える。NRCPD/BC ASCRが提案する、発育関連遺伝子

を随意破壊して原虫の動物体内での増殖を制御可能な GAP ワクチンのコンセプトは、他の家畜原虫病のワクチン開発においても応用が可能で、それらに対する次世代型ワクチン開発のモデルケースとして一定の意義を有すると考える。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

チェコ科学アカデミーは 1992 年に設立された、チェコ共和国の主要な非大学公共研究機関である。バ イオロジーセンター・寄生虫学研究所：Institute of Parasitology, Biology Centre (BC ASCR) は、バベシア症などのマダニ媒介性の家畜感染症の基礎および応用研究に実績がある。同研究所は、これまでに、米国カリフォルニア州立大学、スイス連邦ジュネーブ大学、英国フランシスクリック研究所をはじめ欧米の有名大学・研究所と多数の共同研究の実績を有している。一方で、日本側研究代表者が所属する帯広畜産大学原虫病研究センター (NRCPD) は、マラリア原虫およびバベシア原虫を対象とした遺伝子改変技術の開発研究に関して国際的にも先駆的立場にある。今回の共同研究の機会を得たことで、NRCPD/BC ASCR 双方において、それまでにはなかった欧日間の共同研究体制を新規に構築することができた。この枠組みを中心に、我が国とチェコ共和国の研究者が更に集結して、遺伝子組換え原虫 GAP ワクチン開発を主軸とする地球規模での家畜生産性の向上に向けた研究に相互補完的に取り組む学術交流を一層強力に推進してゆくための基盤を整備することができた。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

ウシのバベシア症をはじめとする家畜原虫病による経済的損失の防止は、依然として世界の畜産業振興および食の安全保障の確保にとって重要な課題であるにもかかわらず、口蹄疫や高病原性鳥インフルエンザなど社会的に注目されているウイルス性疾患に比べ、その対策は非常に遅れている。BC ASCR/NRCPD が提案する GAP ワクチンは、家畜原虫病対策の効率化と標準化を地球規模で実現するための理想的なツールになり得る。例えば、GAP 原虫病ワクチンの導入によって、途上国や新興国が得意とする放牧を基盤とした畜産業を真に機能させることができる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

今回の研究では、日本側研究代表者と研究参加者が所属する NRCPD の若手職員（助教・ポスドク）や大学院生に、欧州で中心的な寄生虫病学研究拠点 BC ASCR との共同研究活動に積極的に参画する機会を提供することができた。今回の共同研究では、カウンターパートが提携する他の共同研究先についても積極的な情報の収集や交流を試みたため、これら若手研究者は、欧米先進国における先端研究活動の実際や研究組織の構築についても総体的に俯瞰することができた。また、相手国側研究代表者と研究参加者が所属する BC ASCR の若手職員（ポスドク）や大学院生にも、NRCPD との共同研究活動に積極的に参画する機会を提供することで、我が国の先端寄生虫学研究の実際や研究組織の構築についても総体的に俯瞰することができた。今回の共同研究の主目的は家畜原虫病対策に益するツールの開発であるが、同時に、両国の若手研究者のグローバル人材育成にも大いに貢献することができた。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

将来的には、この新規のワクチンコンセプトを中核とする先進先駆的な家畜衛生施策をグローバルに提案することで、牧畜を主要な産業とする欧米諸国と同調して、熱帯や亜熱帯に位置する途上国での畜産業振興に、我が国が国際的なリーダーシップをとって貢献することができると考えている。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

NRCPD/BC ASCR 間の学部間学術協定の締結を準備中である。