

課題番号	LS003
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	難治性原虫感染症に対する新規ワクチン技術の開発研究
研究機関・ 部局・職名	国立大学法人帯広畜産大学・原虫病研究センター・准教授
氏名	西川 義文

1. 当該年度の研究目的

本研究は、オリゴマンノース糖鎖を被覆したリポソーム(OML)を基盤技術に難治性原虫感染症のワクチン開発を目指し、「ヒトと家畜動物を対象にした OML の適応拡大」と「自然宿主を想定し実用化を見据えた試験研究」を提案するものである。マラリア原虫、トキソプラズマ、ネオスポラを対象に研究開発を進める。平成23年度は、マラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) とトキソプラズマのワクチン抗原の探索、及びネオスポラのワクチン抗原 NcGRA7 を封入した OML のウシにおける免疫誘導能の評価を研究目的とした。

2. 研究の実施状況

**[マラリア原虫、トキソプラズマ感染に対するOMLモデルワクチンの開発]**  
 OMLワクチンの最大の特徴はアジュバントを使用することなくマクロファージ等の抗原提示細胞を活性化させることにある。マラリア原虫感染(特に赤血球に感染するステージ)に対する防御免疫反応において、これら抗原提示細胞の働きについては不明であった。今回、マクロファージ除去マウスを用いた免疫学的解析により、マラリア原虫に対する感染制御には、マクロファージの機能が重要であることが明らかとなった。そこで、モデルワクチンとして卵白アルブミン(OVA)封入OMLを作製し、OVA発現組換えマラリア原虫の感染に対するワクチン効果を検証した結果、一過性ではあるが原虫の赤血球寄生率を抑制する効果が認められた。よって、原虫由来の抗原を封入したOMLであれば、より効果的なワクチンとして機能することが期待される。そこで、マラリア原虫のワクチン抗原を探索するため、原虫ゲノムデータベースと文献情報を活用し、候補抗原としてMSP1, AMA1を選択した。トキソプラズマ用のワクチン抗原を探索するために、免疫刺激活性、感染抑制を指標にした抗原スクリーニングを行い、5種類の候補ワクチン抗原を選択した(TgGRA7, TgGRA14, TgCyp, TgPF, TgAMA1)。これら選択した抗原についてモデルワクチンを作製し、マウス感染モデルによりワクチンとしての評価を進める。

**[ネオスポラの自然宿主における OML ワクチンの評価]**  
 ウシ用ワクチンの実用化を目指し、ウシ感染モデル系の構築を行った。ワクチン効果の評価項目を探索し、(1)ワクチン抗原 NcGRA7 特異抗体の産生が誘導される、(2)感染初期の血中インターフェロンガンマの産生を抑える、(3)大脳領域への感染を抑制する、ことで評価できることを見出した。さらに、ホルスタイン牛に NcGRA7 封入 OML ワクチンを接種し、NcGRA7 抗原に対する抗体産生を誘導できるワクチン接種プロトコールを作成した。今後、ウシにおけるワクチン効果を検証する。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Hiasa Jun, Nishimura Maki, Itamoto Kazuhiro, Xuan Xuenan, Inokuma Hisashi, Nishikawa Yoshifumi. ELISAs based on <i>Neospora caninum</i> dense granule protein 7 and profilin for estimating the stage of neosporosis. <i>Clinical and Vaccine Immunology</i>, 2012;19(3):411-417. ISSN:1556-6811, URL: <a href="http://cvi.asm.org/content/19/3/411.long">http://cvi.asm.org/content/19/3/411.long</a></li> <li>2. Kameyama Kyohko, Nishimura Maki, Punsantsogvoo Myagmarsuren, Ibrahim Hany M., Xuan Xuenan, Furuoka Hidefumi, Nishikawa Yoshifumi. Immunological characterization of <i>Neospora caninum</i> cyclophilin. <i>Parasitology</i>. 2012;139(3):294-301. ISSN: 0031-1820, URL: <a href="http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&amp;aid=8488774">http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&amp;aid=8488774</a></li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Hiasa Jun, Kohara Junko, Nishimura Maki, Xuan Xuenan, Tokimitsu Hiromi, Nishikawa Yoshifumi. ELISAs based on rNcGRA7 and rNcSAG1 antigens as an indicator of <i>Neospora caninum</i> activation. <i>Veterinary Parasitology</i>. ISSN: 0304-4017, URL: <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712000726">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712000726</a></li> </ol>
<p>会議発表 計 13 件</p>	<p>専門家向け 計 13 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 西川 義文、イブラヒム ハニー、亀山 響子、玄 学南。組換えトキソプラズマを用いたサイクロフィリン 18 の免疫活性化性能の検証。東京慈恵会医科大学(東京)。第80回日本寄生虫学会(震災により中止、発表は要旨集で代用)。</li> <li>2. 亀山 響子、玄 学南、西川 義文。トキソプラズマ由来分泌タンパク質 GRA7 が宿主の免疫機構に与える影響。東京慈恵会医科大学(東京)。2011年7月17日-18日。第80回日本寄生虫学会。</li> <li>3. Yoshifumi Nishikawa, Hany M Ibrahim. Immunomodulatory role of <i>Toxoplasma gondii</i> cyclophilin 18 on a unique strategy for intracellular survival. Sapporo Convention Center (Sapporo). 2011年9月6日-10日。International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (UUMS 2011)。</li> <li>4. Yoshifumi Nishikawa. Specificity of lipid metabolism between <i>Toxoplasma</i> infection and mammalian cells. Sapporo Convention Center (Sapporo). 2011年9月6日-10日。International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (UUMS 2011)。</li> </ol> <p>* International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (UUMS 2011)の Intracellular Parasitism セッションにてコンビーナーを担当</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>5. 西村 麻紀、日浅 淳、小原 潤子、古岡 秀文、西川 義文。<i>Neospora caninum</i>慢性感染牛における病変形成と免疫応答に関する検討。大阪府立大学・中百舌鳥キャンパス(大阪)。2011年9月19日-21日。第152回日本獣医学会学術集会。</li> <li>6. 西川 義文、Hany Ibrahim、亀山 響子、玄 学南。組換えトキソプラズマを用いたサイクロフィリン 18 の免疫活性化性能の検証。大阪府立大学・中百舌鳥キャンパス(大阪)。2011年9月19日-21日。第152回日本獣医学会学術集会。</li> <li>7. 日浅 淳、西村 麻紀、板本 和仁、玄 学南、猪熊 壽、西川 義文。ネオスポラ分子特異抗体を基盤とするネオスポラ症病態診断用マーカーの探索。大阪府立大学・中百舌鳥キャンパス(大阪)。2011年9月19日-21日。第152回日本獣医学会学術集会。</li> </ol> <p>* 第152回日本獣医学会学術集会の日本獣医寄生虫学会において座長を担当。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>8. 西川義文。トキソプラズマの宿主体内移動を制御する原虫因子の機能解析。神戸セミナーハウス(神戸)。2011年10月21日-23日。第19回分子寄生虫学ワークショップ(*世話人を担当)。</li> <li>9. 西川義文、亀山響子、西村麻紀、玄学南、イブラヒム ハニー。トキソプラズマの宿主体内移動を制御するサイクロフィリン18の機能解析。2012年3月23日-24日。兵庫医科大学・西宮キャンパス(兵庫)。第81回日本寄生虫学会。</li> <li>10. Ybanez Rochelle, 西村麻紀、永宗喜三郎、西川義文。ネオスポラ感染に対する植物ホルモン阻害剤フルリドンの治療効果の検証。2012年3月23日-24日。兵庫医科大学・西宮キャンパス(兵庫)。第81回日本寄生虫学会。</li> </ol> <p>* 第81回日本寄生虫学会にて座長を担当。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>11. 西川義文、Rochelle Ybanez、西村麻紀、玄 学南、永宗喜三郎。ネオスポラ感染に対する植物ホルモン阻害剤フルリドンの治療効果の検証。2012年3月27日-29日。国立感染症研究所・大宮ソニックシティ(大</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>宮)。第153回日本獣医学会学術集会。</p> <p>12. 亀山響子、玄 学南、西川義文。トキソプラズマの分泌タンパク質 GRA7 による宿主免疫の活性化。2012年3月27日-29日。国立感染症研究所・大宮ソニックシティ(大宮)。第153回日本獣医学会学術集会。</p> <p>13. 西村麻紀、阿部知紗、古岡秀文、西川義文。<i>Neospora caninum</i> 感染マウスの脳の病理学的検討。2012年3月27日-29日。国立感染症研究所・大宮ソニックシティ(大宮)。第153回日本獣医学会学術集会。</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書	
計0件	
産業財産権 出願・取得状 況	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
計0件	
Webページ (URL)	<p>主要公表論文、帯広畜産大学原虫病研究センターHP: <a href="http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html">http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html</a></p> <p>研究業績、帯広畜産大学原虫病研究センター生体防御学分野HP: <a href="http://www.obihiro.ac.jp/~geneticbiochem/index.html">http://www.obihiro.ac.jp/~geneticbiochem/index.html</a></p>
国民との科 学・技術対話 の実施状況	<p>1. 標題：帯広畜産大学体験授業。実施日：平成23年8月2日。場所：帯広畜産大学・原虫病研究センター。対象者：高校生・札幌日本大学高校。参加者数：40人。内容：高校生を対象に、「パラサイトの教え Lesson from parasites」という表題で大学体験授業(60分)を実施し、質疑応答と研究施設見学を行った。</p> <p>2. 標題：三重大学・高田高校連携事業。実施日：平成23年12月22日。場所：三重大学医学部多目的利用室(実習室)・医学部医動物感染免疫教室。対象者：高校生・高田高校(三重県)。参加者数：37人。内容：本事業に関する寄生虫学関連3課題間(研究代表者：西川義文(帯広畜産大学)、嘉糠洋陸(東京慈恵医科大学)、岩永史朗(三重大学))で連携し、高校生を対象に体験授業と顕微鏡を用いた体験実習を行った。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・各講師の研究専門領域に関する授業(合計1時間) <ul style="list-style-type: none"> <li>岩永史朗：ダニの生理活性物質について</li> <li>嘉糠洋陸：感染症の拡がりとその仕組み</li> <li>西川義文：寄生病原体の感染を防ぐ</li> </ul> </li> <li>・医学部実習室での顕微鏡を用いた標本観察(1時間) <ul style="list-style-type: none"> <li>マラリア原虫の感染赤血球標本の観察</li> </ul> </li> <li>・実際の研究室見学(1時間)</li> </ul>
新聞・一般雑 誌等掲載	
計0件	
その他	

4. その他特記事項

なし

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	135,000,000	52,344,000	0	82,656,000	0
間接経費	40,500,000	15,703,200	0	24,796,800	0
合計	175,500,000	68,047,200	0	107,452,800	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	52,144,000	0	0	52,144,000	48,592,418	3,551,582	0
間接経費	15,643,200	0	0	15,643,200	15,643,200	0	0
合計	67,787,200	0	0	67,787,200	64,235,618	3,551,582	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	33,965,809	CO2インキュベーター、超低温フリーザ、実験試薬等
旅費	651,270	研究成果発表(学会)、研究打合せ等
謝金・人件費等	13,481,194	研究員等人件費、実験補助謝金等
その他	494,145	英文校正、機器修理費等
直接経費計	48,592,418	
間接経費計	15,643,200	
合計	64,235,618	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
CO2インキュベーター	十慈フィールド製 BL-162D	1	798,000	798,000	2011/8/10	帯広畜産大学
ビデオトラッキング・システム一式	室町機械(株)製 CompACT VAS/DV HT-001 VAS01HB RK/IF/WS MK-450MSQ VASFCT SGS-003 AG-450 MWM-04M VAS04MWM 0F-25M VAS250F/R	1	4,893,000	4,893,000	2011/8/31	帯広畜産大学
微量高速冷却遠心機	日立工機製 (CF15RX II)	1	655,200	655,200	2011/12/8	帯広畜産大学

超低温フリーザ	三洋電機(株)製 MDF-U384	1	971,145	971,145	2011/12/12	帯広畜産大学
オールインワン蛍 光顕微鏡一式	(株)キーエンス製 HS(BZ-9000)	1	11,327,190	11,327,190	2012/2/8	帯広畜産大学