

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24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り、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ている。平成24年度は、マラリア原虫とトキソプラズマのワクチン抗原を封入した OML のマウスにおけるワクチン効果の評価と NcGRA7 を封入した OML のウシにおけるネオスポラに対するワクチン効果の評価を目的とした。

2. 研究の実施状況

**【マラリア原虫、トキソプラズマに対するワクチン開発】**  
OML ワクチンの最大の特徴は既存の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効果的に活性化させることにある。マラリア抗原として MSP1 あるいは CSP を封入した OML を作製しマウスに免疫したところ、抗原特異的な抗体産生を効果的に誘導できることが可能となった。MSP1 免疫マウスに対し感染赤血球を投与したところ、生存率50%のワクチン効果を得た。また、CSP 免疫マウスに対し肝臓ステージ原虫を感染させたところ、80%の個体で生存日数の延長が確認でき、そのうち60%は完全に原虫を排除する結果を得ることに成功した。トキソプラズマのワクチン開発として、抗原5種類(GRA7, GRA14, Cyp, PF, AMA1)を OML に封入し、ワクチン効果を検証した。コントロール群の生存率は0-33%であったが、PF 免疫マウスにおいて生存率 67-83%のワクチン効果を得ることができた。ワクチン効果が認められた個体については、脳内原虫数の顕著な減少が認められた。

**【ネオスポラの自然宿主における OML ワクチンの評価】**  
ネオスポラ抗原 NcGRA7 を封入した OML を作製し、50  $\mu$ g 抗原接種群、100  $\mu$ g 抗原接種群、抗原非接種群を設定して、ホルスタイン牛を用いたワクチン試験を実施した。原虫感染後に解剖を行ない、脳がネオスポラの感染評価に最適な部位であり、特に原虫の定量には扁桃体が適していることを明らかにした。抗原非接種群と比較して、100  $\mu$ g 抗原接種群ではワクチン効果が認められなかったが、50  $\mu$ g 抗原接種群において扁桃体の原虫数が有意に減少していた。

以上のように、対象としたすべての原虫において OML ワクチンは感染防除効果を誘導するという結果を得ることができた。今後は、OML ワクチンにより誘導される防御メカニズムの解明を進めていく。

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                  (1) Nishimura M, Kohara J, Hiasa J, Muroi Y, Yokoyama N, Kida K, Xuan X, Furuoka H, Nishikawa Y. Tissue distribution of <i>Neospora caninum</i> in experimentally infected cattle. Clin Vaccine Immunol. 2013;20(2):309-312. 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>                  (2) Hiasa J, Kohara J, Nishimura M, Xuan X, Tokimitsu H, Nishikawa Y. ELISAs based on rNcGRA7 and rNcSAG1 antigens as an indicator of <i>Neospora caninum</i> activation. Vet Parasitol. 2012 Jul 6;187(3-4):379-85. ISSN: 0304-4017, URL: <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712000726">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712000726</a></p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計1件                  (1) Terkawi MA, Kameyama K, Rasul NH, Xuan X, Nishikawa Y. Development of an Immunochromatographic Assay Based on Dense Granule Protein 7 for Serological Detection of <i>Toxoplasma gondii</i> Infection. Clin Vaccine Immunol. 2013 ;20(4):596-601. 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></p>
<p>会議発表 計18件</p>	<p>専門家向け 計18件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 西川義文。ネオスポラワクチンの実用化に向けた取り組み。2012年8月26日-29日。神戸セミナーハウス。第20回分子寄生虫学ワークショップ。*本会で、座長、ワークショップ世話人を担当。</li> <li>2. 田中沙智、西村麻紀、猪原 史成、山岸潤也、鈴木 穰、西川義文。トキソプラズマおよびネオスポラ感染マウスの脳におけるトランスクリプトーム解析。2012年8月26日-29日。神戸セミナーハウス。第20回分子寄生虫学ワークショップ。</li> <li>3. 猪原史成、西川義文。脳内寄生性原虫感染によるマウスの行動変化。2012年8月26日-29日。神戸セミナーハウス。第20回分子寄生虫学ワークショップ。</li> <li>4. 西川義文、西村麻紀、亀山響子、玄学南、古岡秀文。<i>Neospora caninum</i> dense granule protein 7の病態生化学的解析。2012年9月14日-16日。岩手大学。第154回日本獣医学会学術集会。*本会で座長を担当</li> <li>5. 田中沙智、西村麻紀、猪原史成、山岸潤也、鈴木穰、西川義文。トキソプラズマおよびネオスポラ感染マウスの脳におけるトランスクリプトーム解析。2012年9月14日-16日。岩手大学。第154回日本獣医学会学術集会。</li> <li>6. 阿部知紗、西村麻紀、玄学南、西川義文。ネオスポラ感染に対するケモカイン受容体 CCR5 依存的な防御免疫機構の解明。2012年9月14日-16日。岩手大学。第154回日本獣医学会学術集会。</li> <li>7. 西村麻紀、小原潤子、黒田泰弘、田中沙智、室井喜景、小島直也、古岡秀文、西川義文。牛における <i>Neospora caninum</i> dense granule protein 7 封入オリゴ糖リボソームワクチンの有効性評価。2012年9月14日-16日。岩手大学。第154回日本獣医学会学術集会。</li> <li>8. 西川義文、猪原史成、田中沙智、西村麻紀。トキソプラズマ感染による宿主行動と脳内環境の変化。2012年10月12日-13日。群馬大学医学部。第10回分子寄生虫マラリア研究フォーラム。</li> <li>9. 田中沙智、西村麻紀、猪原史成、山岸潤也、鈴木 穰、西川義文。トキソプラズマ感染マウスの脳におけるトランスクリプトーム解析。2013年2月28日-3月2日。北広島クラッセホテル。感染症若手フォーラム。</li> <li>10. Yoshifumi Nishikawa. Development of a next-generation vaccine against refractory protozoan diseases. 2013年3月2日。De La Salle University (フィリピン)。5th Scientific Meeting at the De La Salle University。*招待講演</li> <li>11. 西川義文、Mohamad Alaa Terkawi、亀山響子、Nazim Hamza Rasul、Xuenan Xuan。トキソプラズマ抗体検出のための dense granule protein 7 を用いたイムノクロマトグラフィックテストの開発。2013年3月28日-30日。東京大学駒場キャンパス。第155回日本獣医学会。</li> <li>12. 西村麻紀、田中沙智、古岡秀文、西川義文。<i>Toxoplasma gondii</i> および <i>Neospora caninum</i> 感染マウスにおける脳病変の病理学的検討。2013年3月28日-30日。東京大学駒場キャンパス。第155回日本獣医学会。</li> <li>13. 西川義文、西村麻紀、小原潤子、黒田泰弘、田中沙智、室井喜景、小島直也、古岡秀文。牛における <i>Neospora caninum</i> dense granule protein 7 封入オリゴ糖リボソームワクチンの有効性評価。2013年3月</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>29日-31日。東京医科歯科大学。第82回日本寄生虫学会。</p> <p>14. テルカウィ アラー, 西村麻紀, 古岡秀文, 西川義文。Macrophages are crucial for determining the outcome of blood-stage non-lethal <i>Plasmodium yoelii</i> infection in mice. 2013年3月29日-31日。東京医科歯科大学。第82回日本寄生虫学会。</p> <p>15. 亀山響子, 田中沙智, 玄学南, 西川義文。デンスグラニルタンパク質 GRA7 欠損トキソプラズマの性状解析。2013年3月29日-31日。東京医科歯科大学。第82回日本寄生虫学会。</p> <p>16. 猪原史成, 田中沙智, 室井喜景, 西川義文。トキソプラズマ感染マウスにおける宿主情動行動の変化。2013年3月29日-31日。東京医科歯科大学。第82回日本寄生虫学会。</p> <p>17. 西村麻紀, 永井裕彬, 古岡秀文, 西川義文。CCR5 は妊娠初期の <i>Toxoplasma gondii</i> 感染による流産に関与する。2013年3月29日-31日。東京医科歯科大学。第82回日本寄生虫学会。</p> <p>18. 田中沙智, 西村麻紀, 猪原史成, 山岸潤也, 鈴木穰, 西川義文。トキソプラズマ感染マウスの脳におけるトランスクリプトーム解析。2013年3月29日-31日。東京医科歯科大学。第82回日本寄生虫学会。</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計2件</p>	<p>(取得済み) 計1件</p> <p>1. 名称: vaccine preparation for neospora caninum infection、発明者: 西川義文、横山直明、小島直也、権利者: 帯広畜産大学、東海大学、特許番号: 591871、取得日: 2012年10月8日、国外(ニュージーランド)</p> <p>(出願中) 計1件</p> <p>1. 名称: トキソプラズマ感染症に対するワクチン製剤、発明者: 西川義文、黒田泰弘、小島直也、権利者: 帯広畜産大学、東海大学、出願番号: 特願 2012-186205、出願日: 2012年8月27日、国内</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<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>
<p>国民との科学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1. 標題: 帯広畜産大学オープンキャンパスの原虫病研究センター施設見学の特別企画「感染症研究の最前線を体験しよう(専門家によるミニ講義)」。実施日: 平成24年7月28日。場所: 帯広畜産大学原虫病研究センターPK ホール。対象者: 高校生とその保護者。参加人数: 30人。内容: 「寄生病原体の感染を防ぐ」という演題でポスター解説を行ない、寄生虫サンプルの顕微鏡観察などの模擬実習を行なった。</p> <p>2. 標題: 平成24年度帯広市民大学第16集「畜大のアウトリーチ活動」。実施日: 平成24年8月10日。場所: 帯広市とかちプラザ。対象者: 一般人。参加人数: 20人。内容: 「寄生虫の教え -Lesson from parasites-」という標題で講義(60分)を行なった。</p> <p>3. 標題: 第48回帯広畜産大学祭。実施日: 平成24年10月8日。場所: 帯広畜産大学。対象者: 一般人。参加人数: 230人。内容: 「原虫病研究センター 秋の学校: 原虫病への挑戦」というテーマでポスター解説を行ない、寄生虫サンプルの顕微鏡観察などの模擬実習を行なった。</p> <p>4. 標題: 第2回畜大ふれあいフェスティバル。実施日: 平成24年12月22日。場所: 帯広市とかちプラザ。対象者: 高校生とその保護者、一般人。参加人数: 300人。内容: 模擬実習として、寄生虫の観察と回虫の解剖、NEXT プログラムの紹介を行なった。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

なし

## 実施状況報告書(平成24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	41,478,000	41,178,000	0
間接経費	40,500,000	15,703,200	12,443,400	12,353,400	0
合計	175,500,000	68,047,200	53,921,400	53,531,400	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	3,551,582	41,478,000	0	45,029,582	46,209,654	-1,180,072	0
間接経費	0	12,443,400	0	12,443,400	0	12,443,400	0
合計	3,551,582	53,921,400	0	57,472,982	46,209,654	11,263,328	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	22,417,091	微量生体試料分析システム、実験試薬等
旅費	1,144,000	研究成果発表旅費、研究打合せ等
謝金・人件費等	21,507,113	研究機関研究員人件費等
その他	1,141,450	学会誌投稿料、実験機器修理費等
直接経費計	46,209,654	
間接経費計	0	
合計	46,209,654	

## 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
データ処理装置	微量生体試料分 析用 エイコム製 EPC-500	1	557,550	557,550	2012/9/26	帯広畜産大学
マウス用脳定位 固定装置 単極 一 式	マウス用脳定位 固定装置 単極 Model No.68012 電気ドリルユニ ットドリルビット 0.8mmφ 断頭器 PAT.開口 部寸法75× 75mm	1	633,570	633,570	2012/10/22	帯広畜産大学
微量生体試料分析 システム	(HTEC-500) イン フージョンポン プ マイクロフラ クションコレク ター EFC-82用 電子冷却器	1	4,488,750	4,488,750	2012/10/23	帯広畜産大学