

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25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25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 のマウスにおける防御メカニズムの解析と NcGRA7 を封入した OML のウシにおけるネオスポラに対する防御メカニズムの解析を目的とした。

2. 研究の実施状況

【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 のマウスにおける防御メカニズムの解析】
平成24年度までの研究成果で、マラリア抗原として MSP1 あるいは CSP、トキソプラズマ抗原として PF を封入した OML はマウスにおいて原虫の感染に対する防御効果を示した。平成25年度は、原虫抗原を OML へ封入することで、抗原特異的な抗体産生を増加させることを確認した。また、原虫抗原封入 OML の接種により、マウス内で原虫抗原特異的な T 細胞の効果的な誘導が認められた。

【NcGRA7 を封入した OML のウシにおけるネオスポラに対する防御メカニズムの解析】
平成24年度までの研究成果で、NcGRA7 封入 OML はウシにおいて脳内原虫数の抑制効果を示した。平成25年度の研究において、NcGRA7 封入 OML の接種により抗原特異的な抗体産生と T 細胞の活性化を誘導させることが示された。さらに、感染初期における原虫感染の制御により、ウシにおける全身性の炎症を抑制できることが明らかとなった。

以上の結果は、原虫抗原封入 OML は原虫抗原特異的な液性免疫と細胞性免疫を誘導することで、これら原虫感染を防御できることを示唆している。本研究では、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。また、OML の標的細胞であるマクロファージの役割を検討したところ、(1)マラリア原虫感染における肝臓・腎臓の感染赤血球の排除に必要なこと、(2)トキソプラズマ感染における原虫の体内伝播に関与すること、(3)ネオスポラ感染における感染部位の原虫排除に機能することが明らかとなった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計9件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計6件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ibrahim HM, Nishimura M, Tanaka S, Awadin W, Furuoka H, Xuan X, Nishikawa Y. Overproduction of <i>Toxoplasma gondii</i> cyclophilin-18 regulates host cell migration and enhances parasite dissemination in a CCR5-independent manner. BMC Microbiol. 2014 Mar 25;14(1):76. ISSN: 1471-2180, http://www.biomedcentral.com/1471-2180/14/76 2. Nishikawa Y, Ogiso A, Kameyama K, Nishimura M, Xuan X, Ikehara Y. α2-3 sialic acid glycoconjugate loss and its effect on infection with <i>Toxoplasma</i> parasites. Exp Parasitol. 2013 Aug 27;135(3):479-485. ISSN: 0014-4894, http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489413002300 3. Ybañez RH, Terkawi MA, Kameyama K, Xuan X, Nishikawa Y. Identification of a highly antigenic region of subtilisin-like serine protease 1 for serodiagnosis of <i>Neospora caninum</i> infection. Clin Vaccine Immunol. 2013 Oct;20(10):1617-1622. ISSN:1556-6811, http://cvi.asm.org/content/20/10/1617.long 4. Tanaka S, Nishimura M, Ihara F, Yamagishi J, Suzuki Y, Nishikawa Y. Transcriptome Analysis of Mouse Brain Infected with <i>Toxoplasma gondii</i>. Infect Immun. 2013 Oct;81(10):3609-3619. ISSN:0019-9567, http://iai.asm.org/content/81/10/3609.long 5. Nishimura M, Kohara J, Kuroda Y, Hiasa J, Tanaka S, Muroi Y, Kojima N, Furuoka H, Nishikawa Y. Oligomannose-coated liposome-entrapped dense granule protein 7 induces protective immune response to <i>Neospora caninum</i> in cattle. Vaccine. 2013 Aug 2;31(35):3528-3535. ISSN: 0264-410X, http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X13006981 6. 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 Apr;20(4):596-601. ISSN:1556-6811, http://cvi.asm.org/content/20/4/596.long <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計3件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Abe C, Tanaka S, Ihara F, Nishikawa Y. Macrophage depletion prior to <i>Neospora caninum</i> infection results in severe neosporosis in mice. Clin Vaccine Immunol. In press. ISSN:1556-6811 2. Ihara F, Nishikawa Y. Starvation of low-density lipoprotein-derived cholesterol induces bradyzoite conversion in <i>Toxoplasma gondii</i>. Parasit Vectors. In press. ISSN: 1756-3305 3. Tanaka S, Kuroda Y, Ihara F, Nishimura M, Hiasa J, Kojima N, Nishikawa Y. Vaccination with profilin encapsulated in oligomannose-coated liposomes induces significant protective immunity against <i>Toxoplasma gondii</i>. Vaccine. In press. ISSN: 0264-410X, http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X14001583
<p>会議発表 計15件</p>	<p>専門家向け 計15件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 西川義文 : Brain manipulation by intracellular parasite, <i>Toxoplasma gondii</i>;第2回マトリョーシカ型生物学研究会・公開国際シンポジウム, 2013年7月24日~26日, 京都(ホテル京都ガーデンパレス). マトリョーシカ型生物学研究会主催 2. 西川義文 : トキソプラズマ感染による宿主行動の変化. 第21回分子寄生虫学ワークショップ, 2013年8月25日~28日, 神戸(神戸セミナーハウス). 分子寄生虫学ワークショップ主催 3. 後藤悠太, 西川義文 : トキソプラズマ感染症におけるケモカインレセプターCXCR3の役割について. 第21回分子寄生虫学ワークショップ, 2013年8月25日~28日, 神戸(神戸セミナーハウス). 分子寄生虫学ワークショップ主催 4. 寺江千裕, 西川義文 : トキソプラズマ症の病態における原虫由来サイクロフィリン18の役割. 第21回分

様式19 別紙1

	<p>子寄生虫学ワークショップ, 2013年8月25日~28日, 神戸(神戸セミナーハウス). 分子寄生虫学ワークショップ主催</p> <p>5. Rochelle Ybanez, Alaa Terkawi, 玄学南, 西川義文: スプテリシン様セリンプロテアーゼを用いたネオスポラ血清診断法の開発. 第156回日本獣医学会学術集会, 2013年9月20日~22日, 岐阜(岐阜大学). 日本獣医学会学主催</p> <p>6. 田中沙智, 猪原史成, 西村麻紀, 黒田泰弘, 小島直也, 西川義文: トキソプラズマ症に対するプロフィリン封入オリゴマンノース被覆リポソームワクチンの有効性評価. 第156回日本獣医学会学術集会, 2013年9月20日~22日, 岐阜(岐阜大学). 日本獣医学会学主催</p> <p>7. 阿部知紗, 田中沙智, 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. 第156回日本獣医学会学術集会, 2013年9月20日~22日, 岐阜(岐阜大学). 日本獣医学会学主催</p> <p>8. 猪原史成, 西村麻紀, 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. 第156回日本獣医学会学術集会, 2013年9月20日~22日, 岐阜(岐阜大学). 日本獣医学会学主催</p> <p>9. 西村麻紀, Mohamad Alaa Terkawi, 古岡秀文, 西川義文: マクロファージを除去したマラリアモデルマウスにおける病態発生機序の解明. 第156回日本獣医学会学術集会, 2013年9月20日~22日, 岐阜(岐阜大学). 日本獣医学会学主催</p> <p>10. 西川義文, 西村麻紀, Mohamad Alaa Terkawi, 古岡秀文: マクロファージを除去したマウスマラリアモデルにおける病態発生機序の解明. 第11回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 2013年10月1日~4日, 長崎(長崎大学). 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム主催</p> <p>11. Alaa Terkawi, Maki Nishimura, Hidefumi Furuoka, Yoshifumi Nishikawa: Depletion of macrophages during acute-phase infection of <i>Plasmodium yoelii</i> causes severe malaria associated with hepatic and renal lesions. American Society of Tropical Medicine and Hygiene 62nd Annual Meeting, 2013年11月13日~17日, ワシントン DC (Marriott Wardman Park). American Society of Tropical Medicine and Hygiene 主催</p> <p>12. 西川義文: 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. 『FIRSTシンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ』. 2014年2月28日, 新宿ベルサール新宿グランド、内閣府・最先端研究開発支援プログラム担当室主催</p> <p>13. 西川義文, Terkawi Mohamad Alaa1, 田中沙智, 黒田泰弘, 福本晋也, 小島直也: トキソプラズマおよびマラリア原虫感染に対するオリゴマンノース被覆リポソームワクチンの有効性評価. 第83回日本寄生虫学会, 2014年3月27日~28日, 愛媛(愛媛大学)、日本寄生虫学会主催</p> <p>14. 猪原史成, 西村麻紀, 田中沙智, 室井喜景, 西川義文: トキソプラズマ感染によるマウスの行動変化に関連した脳内環境の破綻. 第83回日本寄生虫学会, 2014年3月27日~28日, 愛媛(愛媛大学)、日本寄生虫学会主催</p> <p>15. Mahmoud Motamed, 西川義文: Development of depression behavior by <i>Toxoplasma gondii</i> infection in mice. 第83回日本寄生虫学会, 2014年3月27日~28日, 愛媛(愛媛大学)、日本寄生虫学会主催</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>図書 1. 「牛病学<第三版>」近代出版 IX 原虫病 2.ネオスポラ症 西川義文 2013年10月1日. P332-335</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計2件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計2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. 出願日: 2013年8月21日. 権利者: 帯広畜産大学、東海大. 出願番号: PCT/JP2013/004928</p> <p>2. 名称: マラリア原虫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. 出願日: 2013年4月18日. 権利者: 帯広畜産大学、東海大. 出願番号: 特願 2013-087431</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: http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html</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・西川研究室 HP: https://sites.google.com/site/nishihdlab/</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1. 講演名: 寄生病原体の感染を防ぐ: ワクチンの作り方 題目名: 平成25年度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 場所: 帯広畜産大学・原虫病研究センターPK ホール 対象者: 75人(高校生とその保護者) 実施年月: 2013年8月3日 内容: 講演と寄生虫病学に関する実習</p> <p>2. 講演名: 寄生病原体の感染を防ぐ 題目名: 内閣府 最先端・次世代研究開発支援プログラム 寄生虫系3課題合同事業「寄生虫感染症制御への新しいタクティクス」 場所: 東京慈恵会医科大学 大学1号館ほか(〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8) 対象者: 東京学芸大学附属世田谷中学校 2~3年生 24名 実施年月: 2013年9月13日 内容: 感染症を専門とする3名の講師による講義・実習</p> <p>3. 講演名: ネオスポラ制圧に向けた最近の動向について 題目名: 平成 25 年家畜保健衛生所病性鑑定技術検討会(寄生虫) 場所: 上川家畜保険衛生所 対象者: 家畜保険衛生所職員 30名 実施年月: 2013年11月27、28日 内容: ネオスポラ症の病性鑑定技術に参考となる講義と実習を実施した。</p> <p>4. 講演名: 寄生虫の観察、回虫の解剖、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 題目名: 畜大ふれあいフェスティバル 場所: とかちプラザ 対象者: 96人(一般人) 実施年月: 2013年12月14日 内容: 研究内容に関するポスター展示、寄生虫の標本展示</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計5件</p>	<p>1. 新聞・雑誌名: 十勝毎日新聞 掲載年月日: 2013年6月7日 頁数: 1 見出し名: 帯畜大 牛の流産起こす原虫を制御 世界初、ワクチン開発</p> <p>2. 新聞・雑誌名: 日本経済新聞 掲載年月日: 2013年6月7日 頁数: 35 見出し名: 牛の流産起こす原虫 ワクチン実用化に一步 帯広畜産大 制御に世界初の成功</p> <p>3. ウェブページの題名: 世界初、ネオスポラの感染制御に成功 帯畜大ら ウェブサイトの名称: DJ ニュース アクセス URL: http://dairyjapan.com/news/?p=5397</p> <p>4. 新聞・雑誌名: 北海道新聞 掲載年月日: 2013年6月12日 頁数: 31 見出し名: 牛の流産防ぐワクチン 帯畜大・西川准教授ら開発 寄生虫死滅に効果</p> <p>5. 新聞・雑誌名: 日本農業新聞 掲載年月日: 2013年9月12日 頁数: 18 見出し名: 牛流産防止に期待 ネオスポラ原虫感染を抑制 ワクチン実用化期す 北海道・帯広畜産大学</p>

様式19 別紙1

その他	
-----	--

4. その他特記事項

NcGRA7 封入 OML については、ネオスポラ用ワクチンの実用化に向けた企業との共同研究を進めている。

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	93,822,000	41,178,000	0	0
間接経費	40,500,000	28,146,600	12,353,400	0	0
合計	175,500,000	121,968,600	53,531,400	0	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	-1,180,072	41,178,000	0	39,997,928	39,997,928	0	0
間接経費	12,443,400	12,353,400	0	24,796,800	24,796,800	0	0
合計	11,263,328	53,531,400	0	64,794,728	64,794,728	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	21,121,522	実験試薬、実験動物等
旅費	846,020	研究成果発表(学会)、アウトリーチ活動等
謝金・人件費等	17,126,334	研究員等人件費
その他	904,052	英文校正、機器修理費、論文投稿料等
直接経費計	39,997,928	
間接経費計	24,796,800	
合計	64,794,728	

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
10-PACK SYBR GREEN PCR CORE	ABI 200回	1	536,760	536,760	2013/4/23	帯広畜産大学
TurSeq SR Cluster Kit v3-cBot-HS	イルミナ (1Flowcell)(GD- 401-3001)	3	516,705	1,550,115	2014/1/23	帯広畜産大学