

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：10105

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2019～2022

課題番号：19KK0174

研究課題名（和文）新たに発見された病原性牛バベシアに対する国際防疫体制強化に向けた基盤研究

研究課題名（英文）Basic research for devising measures for the global control of newly discovered pathogenic Babesia in cattle

研究代表者

横山 直明（Yokoyama, Naoaki）

帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授

研究者番号：80301802

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,100,000円

研究成果の概要（和文）：スリランカ、モンゴル、フィリピン、ベトナム、エジプト、ウガンダ、ブラジル、及びアルゼンチンの牛、水牛、山羊、羊、及びのラクダの血液DNAサンプルに対して、PCRによるスクリーニング診断を行った。その結果、新牛バベシア種（*Babesia* sp. *Mymensingh*）が、牛のみならず、水牛、羊、山羊、及びラクダにも感染し、かつアジア、アフリカ、南アメリカに広く分布していることが明らかとなった。その後、本牛バベシア種の形態学的・遺伝学的特徴を精査し、高病原性牛バベシア病を引き起こす新たな新種として、正式な学名“*Babesia naoakii*”を登録した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

*Babesia naoakii*は、我が国で家畜法定伝染病の病原体に指定されている既知の*Babesia bovis*と*Babesia bigemina*に続く、第3の病原性牛バベシアとなった。このようなリスクの高い海外悪性病原体は、常に水際で我が国への侵入を厳重に食い止める必要があるが、研究開始時では動物検疫所でその感染検体を確保することができない状況にあった。そのため、遺伝子診断法の確立と学名の登録まで完了した本研究の成果は、我が国の防疫体制の向上に向けて極めて大きい意義を持つ。また、今後もOIEリファレンスラボラトリーの専門家として牛バベシア病に関する研究をリードできる学術基盤も構築できた。

研究成果の概要（英文）：Blood DNA samples of cattle, buffalo, goats, sheep, and camels from Sri Lanka, Mongolia, the Philippines, Vietnam, Egypt, Uganda, Brazil, and Argentina were screened using a parasite-specific diagnostic PCR assay. The results showed that the novel bovine *Babesia* species (*Babesia* sp. *Mymensingh*) infects not only cattle but also buffalo, sheep, goats, and camels in Asian, African, and South American countries. Our subsequent in-depth morphological and genetic analyses found that the *Babesia* species was a distinct parasite species and therefore, provided with an official scientific name "*Babesia naoakii*". *Babesia naoakii*, which causes a severe form of bovine babesiosis, has been registered in the ZooBank and described as a novel species in a scientific publication.

研究分野：獣医学

キーワード：*Babesia naoakii* 牛バベシア病 *Babesia* sp. *Mymensingh* 国際防疫体制強化 PCR *Babesia bovis*
Babesia bigemina 牛

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

牛バベシア病は、マダニによって媒介され、赤血球に寄生して牛に発熱、貧血、血色素尿を呈し、多大な経済的被害をもたらす海外悪性伝染病である。2017年スリランカにて、バベシア様臨床症状(血色素尿など)を呈する牛(n=13)を抽出し、それらの牛に感染している牛バベシアの遺伝学的解析を行った。その結果、2種の既知の高病原性牛バベシア(*Babesia bovis*と*Babesia bigemina*)が検出された一方で、驚くべきことに遺伝学的に大きく異なる新たな牛バベシア種も発見された。かつてバングラディッシュで登録された遺伝子断片と相同性が高い塩基配列を一部共有していたことから、本新バベシアを暫定的に“*Babesia* sp. Mymensingh”と名付けた。新バベシアが単独感染していた牛では、高度な発熱、貧血、黄疸、血色素尿を呈していたことから、「新バベシアは牛に臨床症状を誘起する新たな高病原性バベシアである。」と結論づけた。既知の*Babesia bovis*と*Babesia bigemina*は、口蹄疫や高病原性鳥インフルエンザと並んで我が国では最高ランクの家畜法定伝染病の病原体に指定されており、それに続く第3の病原性牛バベシアの発見となる。本研究の成果は、スリランカ獣医学研究所との国際共同研究の成果として、2018年に下記の学術論文に掲載された。

Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Zhyldyz, A., Kothalawala, H., Yapa, P.R., Kanagaratnam, R., Vimalakumar, S.C., Abeysekera, T.S., Weerasingha, A.S., Yamagishi, J., Igarashi, I., Silva, S.S.P., and Yokoyama, N.: Genetic analysis of *Babesia* isolates from cattle with clinical babesiosis in Sri Lanka. *J. Clin. Microbiol.*, 56: e00895-18, 2018.

2. 研究の目的

我々がスリランカで発見した新牛バベシアは、我が国で家畜法定伝染病の病原体に指定されている既知の*B. bovis*と*B. bigemina*に続く、第3の病原性牛バベシア(*Babesia* sp. Mymensingh)である。本研究課題では、新たに発見された病原性牛バベシアに対する国際防疫体制強化に資する学術基盤を構築していくことを目的とした。

3. 研究の方法

新牛バベシア(*Babesia* sp. Mymensingh)を特異的に検出できる遺伝子診断法(PCR法)を開発し、そのPCRを用いて*Babesia* sp. Mymensinghの国際分布と感染宿主の解明を行った。

4. 研究成果

1) 我々がこれまで収集してきたスリランカ(牛と水牛)、フィリピン(牛)、ベトナム(牛、水牛、羊、及び山羊)、ウガンダ(牛)、ブラジル(牛)、及びアルゼンチン(牛)由来の血液DNAサンプルを用いて、*Babesia* sp. Mymensinghに対するPCRスクリーニング診断を行った。その結果、ほぼすべての国から*Babesia* sp. Mymensinghが検出され、本新バベシア種はアジア、アフリカ、及び南米に広く分布していることが初めて明らかとなった。また、牛のみならず、水牛、羊、及び山羊からも本バベシア種が検出され、*Babesia* sp. Mymensinghは幅広い種類の反芻動物に感染することも示された。また本研究では、*Babesia* sp. Mymensinghに対する特異的PCRを確立できた。本年度の成果より、*Babesia* sp. Mymensinghのリスク評価に向けた海外現地調査の必要性がますます高まった。

Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Kothalawala, H., Silva, S.S.P., Lan, D.T.B., Long, P.T., Ybañez, A.P., Ybañez, R.H.D., Francisco, Benitez D., Tayebwa, D.S., D.E. Macedo, A.C.C., Schnittger, L., and Yokoyama, N.: Host range and geographical distribution of *Babesia* sp. Mymensingh. *Transbound. Emerg. Dis.*, 67: 2233-2239, 2020.

2) モンゴルで放牧・飼育されていた計725頭の牛の血液DNAサンプルに対して、それぞれの牛バベシア種を標的としたPCRスクリーニング診断を行った。その結果、*B. bovis*、*B. bigemina*、及び*Babesia* sp. Mymensinghの全体陽性率が、それぞれ27.9%、23.6%、及び5.4%であることが明らかになった。これらの結果より、モンゴルにおける牛バベシアの深刻な感染実態が示された。特に、モンゴルにおける*Babesia* sp. Mymensinghの検出は初めての報告となった。また、*Babesia* sp. Mymensinghに対する特異的PCRの有効性も検証できた。本年度の成果より、*Babesia* sp. Mymensinghのリスク評価に向けた海外現地調査と疾病制御に向けた対応策ガイドラインの

作成の必要性がますます高まった。

Otgonsuren, D., Sivakumar, T., Amgalanbaatar, T., Enkhtaivan, B., Narantsatsral, S., Tuvshintulga, B., Zoljargal, M., Munkhgerel, D., Davkharbayar, B., Baatarjargal, P., Davaasuren, B., Myagmarsuren, P., Battsetseg, B., Battur, B., and Yokoyama, N.: Molecular epidemiological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Babesia* sp. Mymensingh infections in Mongolian cattle. *Parasitol. Int.*, 77: 102107, 2020.

3) モンゴルのラクダを対象に、モンゴルの牛から過去に検出された臨床学的に重要な3種の牛バベシア (*B. bovis*, *B. bigemina*, および *Babesia* sp. Mymensingh) の感染についてPCRによる疫学調査を行った。その結果、モンゴルのラクダは調査した3種すべての牛バベシアに感染していることが判明した。特に、*B. bovis*, *B. bigemina*, および *Babesia* sp. Mymensingh の全体陽性率はそれぞれ32.1%、21.6%、24.3%であり、調査対象動物の52.5%が少なくとも1種の牛バベシアに感染している実態が明らかとなった。モンゴルでは通常牛とラクダが放牧地を共有しており、さらに牛に寄生するマダニ種はラクダにも寄生する。これらの背景から、牛とラクダの間でマダニを介した牛バベシアの伝播が起こっている可能性が示唆された。

Otgonsuren, D., Sivakumar, T., Amgalanbaatar, T., Enkhtaivan, B., Narantsatsral, S., Davaasuren, B., Zoljargal, M., Munkhgerel, D., Davkharbayar, B., Batmagnai, E., Tuvshintulga, B., Ahedor, B., Myagmarsuren, P., Battur, B., Battsetseg, B., and Yokoyama, N.: Molecular survey of bovine *Babesia* species in Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in Mongolia. *Ticks Tick Borne. Dis.*, 13:101871, 2022.

4) エジプトのラクダにおけるバベシア、タイレリア、トリパノソーマ、アナプラズマの感染疫学調査を行った。本研究では、エジプト6県で飼育されていた計148頭のラクダの血液を対象にPCRスクリーニング診断を行った。その結果、19.6%、14.9%、0.7%、1.4%、0.7%、1.4%、および18.9%のラクダが、それぞれ *B. bovis*, *B. bigemina*, *Babesia* sp. Mymensingh, *Theileria* sp. Yokoyama, *Theileria equi*, *Trypanosoma evansi*, および *Anaplasma marginale* に感染していた。この成果は、*Babesia* sp. Mymensingh と *Theileria* sp. Yokoyama の感染をエジプトおよびラクダで診断した最初の報告となった。

Salman, D., Sivakumar, T., Otgonsuren, D., Mahmoud, M.E., Elmahallawy, E.K., Khalphallah, A., Kounour, A.M.E.Y., Bayomi, S.A., Igarashi, M., and Yokoyama, N.: Molecular survey of *Babesia*, *Theileria*, *Trypanosoma*, and *Anaplasma* infections in camels (*Camelus dromedaries*) in Egypt. *Parasitol. Int.*, 90: 102618, 2022.

5) 新たな系統解析を行うことで、*Babesia* sp. Mymensingh の新学名の決定を行った。我々が発見した高病原性バベシア種 (*Babesia* sp. Mymensingh) は世界に広く分布することが分かってきた。本研究では、*Babesia* sp. Mymensingh のミトコンドリア、プラスチド、核の遺伝子群を解析し、本原虫種の系統学的位置を検証した。その結果、本原虫種は既存バベシア種とは異なるユニークな系統学的位置を占め、かつ *B. bigemina* と *B. ovata* の共通の祖先の姉妹クレードを形成することが明らかとなった。形態学的並びに遺伝学的特徴から、我々は本原虫種を新たな学名として "*Babesia naoakii*" と名付けた。

Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Otgonsuren, D., Batmagnai, E., Ahedor, B., Kothalawala, H., Vimalakumar, S.C., Silva, S.S.P., Yamagishi, J., and Yokoyama, N.: Phylogenetic analyses of the mitochondrial, plastid, and nuclear genes of *Babesia* sp. Mymensingh and its naming as *Babesia naoakii* n. sp. *Parasit. Vectors*, 15: 299, 2022.

<最終年度までに得られた成果の概要>

まず、新牛バベシア病の病原体である *Babesia* sp. Mymensingh に特異的な遺伝子診断用PCRを構築し、本牛バベシア種の宿主範囲と世界規模での感染分布を確認した。すなわち、1) スリランカ、フィリピン、ベトナム、ウガンダ、ブラジル、及びアルゼンチンの牛、2) スリランカとベトナムの水牛、3) ベトナムの山羊、4) ベトナムの羊、及び5) モンゴルとエジプトのラクダを含む合計3,313の血液由来DNAサンプルに対して、PCRによるスクリーニング診断を行った。その結果、*Babesia* sp. Mymensingh は、調査を行ったすべての反芻動物種でその感染が確

認された。また、ブラジルを除くすべての国々から、本バベシア種が検出された。これらの成果により、本バベシア種が牛のみならず、水牛、羊、山羊、及びラクダにも感染し、かつアジア、アフリカ、南米に広く分布していることが明らかとなった。その後、本牛バベシア種の形態学的・遺伝学的特徴や感染時の臨床学的・治療学的特徴を精査・取りまとめを行い、最終年度には高病原性牛バベシア病を引き起こす新たな新種として、正式な学名“*Babesia naoakii*”を登録した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 10件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sivakumar Thillaiampalam, Tuvshintulga Bumduuren, Otgonsuren Davaajav, Batmagnai Enkhbaatar, Ahdor Believe, Kothalawala Hemal, Vimalakumar Singarayar Caniciyas, Silva Seekkuge Susil Priyantha, Yamagishi Junya, Yokoyama Naoaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Phylogenetic analyses of the mitochondrial, plastid, and nuclear genes of Babesia sp. Mymensingh and its naming as Babesia naoakii n. sp.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasites & Vectors	6. 最初と最後の頁 299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13071-022-05374-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Otgonsuren Davaajav, Sivakumar Thillaiampalam, Yokoyama Naoaki 他13名	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular survey of bovine Babesia species in Bactrian camels (Camelus bactrianus) in Mongolia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101871 ~ 101871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2021.101871	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Salman Doaa, Sivakumar Thillaiampalam, Otgonsuren Davaajav, Mahmoud Motamed E., Elmahallawy Ehab Kotb, Khalphallah Arafat, Kounour Ahmed M.E.Y., Bayomi Sara A., Igarashi Makoto, Yokoyama Naoaki	4. 巻 90
2. 論文標題 Molecular survey of Babesia, Theileria, Trypanosoma, and Anaplasma infections in camels (Camelus dromedaries) in Egypt	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102618 ~ 102618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2022.102618	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sivakumar Thillaiampalam, Tuvshintulga Bumduuren, Kothalawala Hemal, Silva Seekkuge Susil Priyantha, Lan Dinh Thi Bich, Long Phung Thang, Yba?ez Adrian Patalinghug, Yba?ez Rochelle Haidee Daclan, Francisco Benitez Daniel, Tayebwa Dickson Stuart, DE Macedo Alan Caine Costa, Schnittger Leonhard, Yokoyama Naoaki	4. 巻 67
2. 論文標題 Host range and geographical distribution of Babesia sp. Mymensingh	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transboundary and Emerging Diseases	6. 最初と最後の頁 2233-2239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbed.13546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Otgonsuren Davaajav, Sivakumar Thillaiampalam, Yokoyama Naoaki et al.	4. 巻 77
2. 論文標題 Molecular epidemiological survey of Babesia bovis, Babesia bigemina, and Babesia sp. Mymensingh infections in Mongolian cattle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102107 ~ 102107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Naoaki Yokoyama
2. 発表標題 A success story of SATREPS project: Control of protozoan diseases to improve livestock production in Mongolia
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naoaki Yokoyama
2. 発表標題 An introduction to our collaboration with OIE
3. 学会等名 The 1st International Conference of Advanced Veterinary Science and Technologies for Sustainable Development (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横山直明、Sivakumar, T.
2. 発表標題 Host range and distribution of Babesia sp. Mymensingh
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Otogonsuren, D., Sivakumar, T., Battur, B., Battsetseg, B., 横山直明
2. 発表標題 Molecular epidemiology of virulent Babesia parasites in Mongolian cattle
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sivakumar, T., 横山直明
2. 発表標題 Discovery of a new Theileria species closely related to Theileria annulata in cattle from Sri Lanka
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>OIE Reference Centres https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-reference-centres 帯広畜産大学・原虫病研究センター https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	白藤 梨可 (Shirafuji Rika) (00549909)	帯広畜産大学・原虫病研究センター・助教 (10105)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	ティルラセンバラム シヴァクマール (Sivakumar Thillaiampalam) (00826711)	帯広畜産大学・原虫病研究センター・特任研究員 (10105)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
モンゴル	Institute of Veterinary Medicine	Mongolian University of Life Sciences		
スリランカ	Veterinary Research Institute	Dep. of Animal Production and Health		
ベトナム	Hue University			
フィリピン	Cebu Technological University			
ウガンダ	Makerere University			
日本	Hokkaido University			
エジプト	Sohag University	Assiut University		
アルゼンチン	INTA			
ブラジル	Con. Reg. de Med. Vet. da Bahia			