

令和 6 年 9 月 12 日現在

機関番号：10105

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21359

研究課題名（和文）ネオスポラ症に対する次世代ワクチン株の開発と原虫ベクター化への応用展開

研究課題名（英文）Development of next-generation vaccine strains against neosporosis and their application for vector based on protozoan parasite

研究代表者

西川 義文（Nishikawa, Yoshifumi）

帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授

研究者番号：90431395

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：免疫学の発展によりウイルスや細菌に対する各種ワクチンが開発されているが、原虫病に対するワクチン開発は困難を極めている。近年の遺伝子編集技術の開発・進歩により様々な生物種への遺伝子導入や遺伝子破壊が容易となり、原虫の研究分野においても遺伝子を欠損させることでその病原性を弱めることが可能となってきた。そこで本研究では我々が確立した遺伝子編集技術を基盤として、原虫独自の感染伝搬能力を欠損させた次世代のネオスポラのワクチン株を作成し、ネオスポラ感染に対する感染防御効果とがんに対する治療効果を確認した。作製した弱毒株を用いることで、難治性原虫病の制圧及び癌ワクチンへの開発につながる事が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、様々なサブユニットワクチン開発が行われ、ウイルスベクターを中心にヒトでの臨床開発が進められている。しかしながら、ウイルスベクターの安全性が懸念されている。一方、ネオスポラはヒトでの免疫誘導能は保持するが病原性・感染性は極めて低く、細胞ゲノムへの組込みリスクや体外排出は認められない。従って、ネオスポラのベクター化の試みが癌などの難治性疾患の制圧戦略に向けた新たな研究分野の創出へ寄与する可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：Although the progress in immunology has led to the development of various vaccines against viruses and bacteria, the development of vaccines against protozoan diseases has been extremely difficult. Recent advances in gene editing technology have facilitated the introduction and disruption of genes in various organisms, and in the field of parasite research, it has become possible to reduce the virulence of the parasites by gene disruption. In this study, based on our gene editing technology, we generated a next-generation Neospora vaccine strain that lacks the ability to transmit infection, and confirmed its protective effect against infection with Neospora and its therapeutic effect against cancer. It is expected that the attenuated strain will be used to control intractable parasitic diseases and to develop a cancer vaccine.

研究分野：感染免疫学

キーワード：原虫 ネオスポラ ワクチン ベクター

## 1. 研究開始当初の背景

原虫を予防する戦略は大きく二つに分けられる。一つは標的抗原に対する特異抗体を誘導させ、その原虫抗原の機能を不活化させることで原虫を殺傷する手法である。もう一つは原虫に特異的な細胞性免疫を誘導させ、細胞傷害性 T 細胞、マクロファージや NK 細胞によって原虫やその寄生細胞を死滅させる方法である。近年の研究により、原虫感染制御における抗体の作用は補助的なものであり、効果的な細胞性免疫の誘導の必要性が示されている。細胞性免疫を誘導できる技術としては、原虫の不活化ワクチン、原虫抗原を使ったサブユニットワクチン、弱毒生ワクチンが挙げられる。不活化ワクチンやサブユニットワクチンは安全性が高いが、十分な免疫を誘導するために細菌毒素やアルミニウム塩などをアジュバンドとして加える必要がある。しかし、これらアジュバンドの副反応の問題が指摘されている。免疫誘導能では弱毒生ワクチンが最も効果が高いが、原虫自体が寄生・潜伏感染する特徴からその安全性に問題が残る。

以上のように従来型のワクチン開発戦略はすでにその限界を迎え、原虫病ワクチンの開発競争はそれを打ち破る新たな技術の開発に集約されてきた。これまでの歴史から見てもワクチン開発に携わる多くの研究者は、安全性の問題さえ解決されれば生ワクチンが最も予防効果が高いと考えている。近年の遺伝子編集技術の開発・進歩により様々な生物種への遺伝子導入や遺伝子破壊が容易となり、原虫研究の分野においても病原性に関与する遺伝子を欠損させることによる原虫の弱毒化が可能となってきた。また、原虫感染が他の病原体やがん細胞に対する交叉防御効果を誘導できることが多数報告されている。この事実は、安全な原虫ワクチン株をベクター化することで他の難治性疾患に対するワクチン開発へ応用できることを示唆している。そこで本研究では、遺伝子編集技術により安全で有効な次世代ワクチン株を作出し、様々な難治性原虫病の制圧及びがんワクチン開発に展開するという研究構想に至った。

## 2. 研究の目的

我が国の大規模農場経営においては、乳用牛と肉牛の飼養が大きな割合を占め、農場経営を進める上で家畜生産に損害を与える疾病、特に病原性原虫ネオスポラ (*Neospora caninum*) の感染による流産に注意する必要がある。しかしネオスポラに対するワクチンや治療薬は無く、現実的な対応は感染個体を摘発し感染拡大を防ぐしか無い。そこで本研究では、ネオスポラに対する次世代ワクチン株の作出を第一目標とした。本研究では、「宿主細胞内での増殖を抑制」、「宿主動物体内の感染伝搬を抑制」、「潜伏感染を阻害」させることで、安全性を高めた次世代のネオスポラワクチン株を作出する。また、細胞内寄生原虫は強力な自然免疫を誘導することが可能であり、その潜在的な免疫活性化能に着目すればワクチン株のベクター化により様々な難治性疾患へ応用することが可能である。従って本研究の第二目標として、がん移植マウスに対する治療効果を検証した。

## 3. 研究の方法

(1) **増殖能力が欠損した原虫株の作出 (NeoUA 株)** : 細胞内寄生原虫が宿主細胞内で増殖するためにはピリミジン代謝経路が必須であり、RNA と DNA の合成に必要な uridine 5-monophosphate (UMP) を de novo 経路あるいは salvage 経路から合成する必要がある。ネオスポラには UMP 合成経路に関わる一連の酵素群が保存され、uracil phosphoribosyltransferase (UPRT) を介してウラシルを取り込む活性が確認されたため、de novo 経路と salvage 経路の存在が推測された。従って、de novo 経路の律速酵素である orotidine-5'-monophosphate decarboxylase (OMPDC) 遺伝子を破壊することにより、salvage 経路に依存するウラシル要求性株 (NeoUA 株) の作出が可能であると考えられる。哺乳動物ではウラシル濃度が極めて低いため、NeoUA 株が増殖できず病原性が低下することが想定される。ここでは、ネオスポラで使用するために独自に設計した CRISPR-Cas9 システムにより OMPDC 破壊株を作出した。

(2) **感染伝搬能力が欠損し潜伏感染できない原虫株の作出 (NeoMD 株)** : ネオスポラは感染部位(末梢)で単球などの免疫細胞に捕食され、循環血を經由して全身に伝搬し、最終的には脳組織で原虫ステージをタキゾイトからブラディゾイトへ変換して潜伏感染を成立させる。ネオスポラ感染単球が脳へ移動するためには、脳由来の誘引物質が原虫感染単球に反応することが想定される。事実、我々の先行研究ではネオスポラ感染マウスの脳組織では免疫細胞の遊走に関与する各種ケモカイン (Cxc19, Ccl18, Ccl15) の遺伝子発現が増加していた (doi: 10.1038/srep07936)。従って、我々が保有するブラディゾイトへ変換しない原虫株を用いて、関連ケモカインやサイトカインの活性化に関わる原虫因子あるいは宿主細胞への感染に関与する原虫因子を破壊した株を作製した (NeoMD 株)。

(3) **ネオスポラ感染に対するワクチン効果の検証** : NeoUA 株と NeoMD 株を実験マウスへ感染させ病原性を解析した。雄マウス及び妊娠・非妊娠雌マウスへ感染させ、マウスの生存率と組織の病理組織学的解析を実施し、親株原虫の感染での結果と比較することで、遺伝子破壊による原虫の病原性の変化を解析した。妊娠マウスについては、妊娠率、出産率、仔マウスの生存率も評価した。次に病原性を示さなかった弱毒化株を雄マウス及び非妊娠雌マウスへ接種し、高病原性ネ

オスポラ株の攻撃試験を行いマウスの生存率を評価した。さらに雌マウスへ弱毒化株を接種し、交配後妊娠中期（妊娠 7-9 日）に高病原性ネオスポラ株の攻撃試験を行い母親マウスと仔マウスの生存率を評価した。

(4) ネオスポラ感染が誘導する抗腫瘍効果の検証: BALB/c マウスの背側皮下に CT26 マウス大腸がん細胞を接種し、1 日おきに腫瘍の体積を測定した。がん細胞接種後 14 日目に約直径 5 mm に達した腫瘍近傍にネオスポラを皮下投与した。がん細胞接種後 45 日目（感染 31 日目）にマウスの腫瘍を採材した。また追加実験でがん細胞接種後 24 日目（感染 10 日目）において同様に採材した。採材した腫瘍の半分はホルマリン固定し、病理解析を行った。また腫瘍から RNA を抽出し、Gasdermin-D (GSDMD) などパイロトーシスに関連する mRNA の発現解析を行った。

#### 4. 研究成果

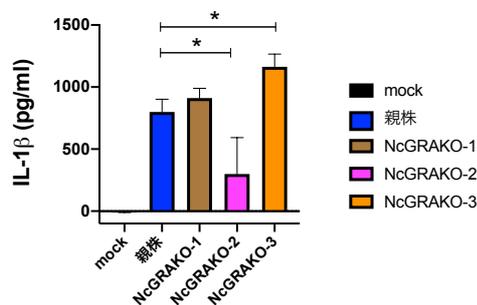
##### (1) ネオスポラに対する次世代ワクチン株の作出

###### ① 増殖能力が欠損した原虫株の作出 (NeoUA 株)

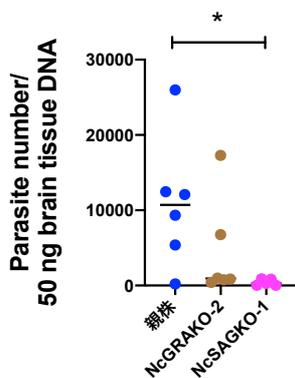
細胞内寄生原虫が宿主細胞内で増殖するためにはピリミジン代謝経路が必須であり、RNA と DNA の合成に必要な uridine 5-monophosphate (UMP) を de novo 経路あるいは salvage 経路から合成する必要がある。ネオスポラには UMP 合成経路に関わる一連の酵素群が保存され、uracil phosphoribosyltransferase (UPRT) を介してウラシルを取り込む活性が確認されたため、de novo 経路と salvage 経路の存在が推測された。従って、de novo 経路の律速酵素である orotidine-5'-monophosphate decarboxylase (OMPDC) 遺伝子を破壊することにより、salvage 経路に依存するウラシル要求性株 (NeoUA 株) の作出を試みた。哺乳動物ではウラシル濃度が極めて低いため、NeoUA 株が増殖できず病原性が低下することが想定される。ネオスポラで使用するために独自に設計した CRISPR-Cas9 システムにより OMPDC 破壊株を作出し、ウラシル非存在下では培養細胞内で増殖が顕著に抑制されることを確認した。OMPDC 破壊株を用いてマウスモデルにて病原性の解析を実施したが、親株 (Nc1 株) と比較して OMPDC 破壊株の病原性の低下を確認することができなかった。そこで、NeoUA 株の in vitro での増殖を再検証した。理論上 UMP 合成経路に関わる orotidine-5'-monophosphate decarboxylase (OMPDC) 遺伝子を欠損させた NeoUA 株はウラシル非存在下で増殖できないが、作製した NeoUA 株では増殖を完全に止めることはできなかった。

###### ② 感染伝搬能力が欠損し潜伏感染できない原虫株の作出 (NeoMD 株)

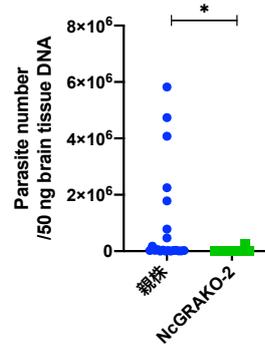
ネオスポラは感染部位（末梢）で単球などの免疫細胞に捕食され、循環血を經由して全身に伝搬し、最終的には脳組織で原虫ステージをタキゾイトからブラディゾイトへ変換して潜伏感染を成立させる。ネオスポラ感染単球が脳へ移動するためには、脳由来の誘引物質が原虫感染単球に反応することが想定される。今回、単球の活性化に関与する原虫分子を同定し、当該分子欠損株 (NeoMD 株) の正常解析を行った。その結果、NcGRAKO-2 の感染は単球の IL-1 $\beta$  産生レベルが低下しており、当該因子が炎症反応に関与するインフラマソームの活性化に関与することが明らかとなった（図 1）。NcGRAKO-2 (NeoMD) 株は原虫の脳組織への移動が減少し（図 2）、妊娠期の感染に伴う垂直感染の能力も低下している（図 3）ことが明らかとなった。



【図1】各種遺伝子欠損原虫感染ヒト単球 (THP1) の IL-1 $\beta$  産生 \*  $P < 0.05$ , one-way ANOVA plus Tukey-Kramer hoc test

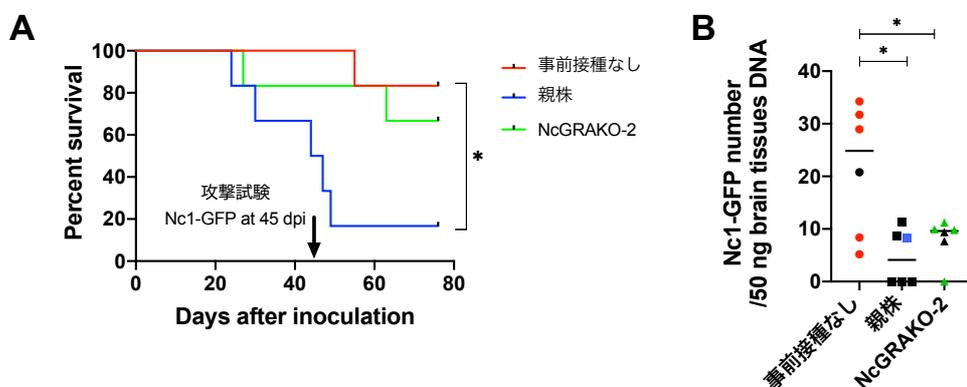


【図2】感染30日後のマウス脳内原虫数 \*  $P < 0.05$ , one-way ANOVA plus Tukey-Kramer hoc test



【図3】妊娠期感染後、生後30日以内新生マウスの脳内原虫数 \*  $P < 0.05$ , Mann-Whitney U test

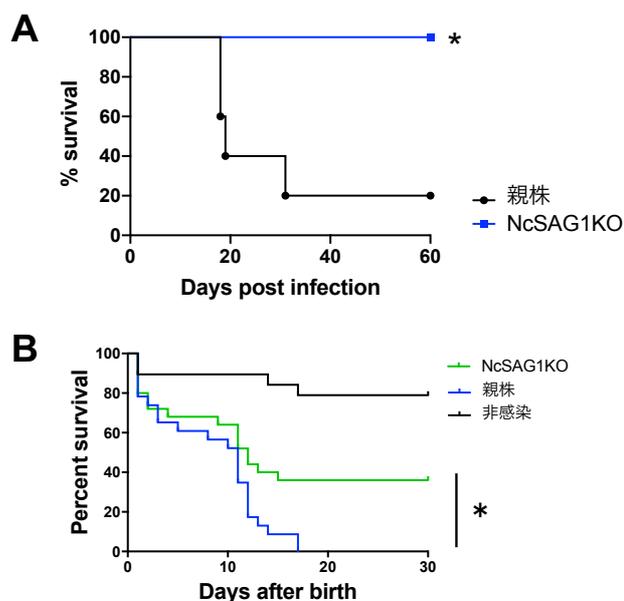
感染伝搬能力が欠損し潜伏感染できない原虫株 (NeoMD 株) について、ワクチン株としての有効性の検証を行った。非妊娠マウスモデルを使用し、親株 (Nc1 株) と NeoMD 株接種 ( $10^5$  原虫) によるマウスの体重変動と臨床スコアを比較したところ、NeoMD 株の病原性の低下が確認された。原虫株接種後 45 日目に攻撃試験を行いマウスの生存率を比較したところ、NeoMD 株接種マウスの生存率の上昇と脳内における攻撃原虫株の虫体数の減少が認められた (図 4)。



【図4】(A) BALB/c(メス)に $10^5$ 原虫を感染させ、45日後にGFP発現ネオスポラで攻撃試験を行った。実験76日までマウスの生存を観察し、生存率を算出した。\*  $P < 0.05$ , Log-rank test (B) 実験76日まで生存したマウスの脳とそれ以前に死亡したマウスの脳(黒色)における原虫数。\*  $P < 0.05$ , one-way ANOVA plus Tukey-Kramer hoc test

非妊娠雌マウスと雄マウスで NeoMD 株の接種量 ( $10^4$  原虫と  $10^5$  原虫) を検討したところ、病原性を考慮すると  $10^4$  原虫接種でより効果的なワクチン効果を確認できた。妊娠マウスモデルで NeoMD 株のワクチン効果を検証したところ、 $10^5$  原虫接種では攻撃試験による垂直感染を防御できなかったが、 $10^4$  原虫接種では有意に垂直感染を防御することができた (生後 30 日の新生マウス生存率、ワクチン非接種群: 6.9%、NeoMD 株接種群: 75.0%)。以上の結果より、NeoMD 株の生ワクチンとしての有効性が示された。

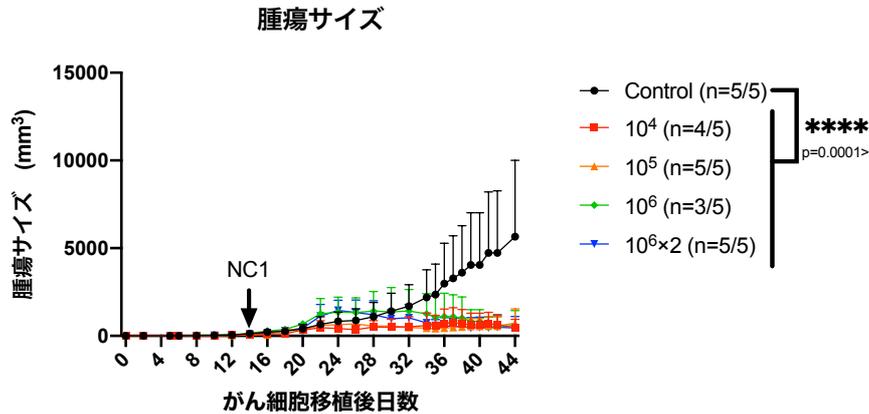
NeoMD 株について、上述の株とは別の原虫株を作製し感染伝搬能力を解析した (NcSAG1KO 株)。NcSAG1KO 株は、親株原虫と比較してマウスに対する病原性が低下し (マウス生存率の上昇、脳内原虫数の減少、臨床症状の低下)、マウス妊娠期感染による垂直感染率の低下も確認された (図 2、図 5)。今後は、NeoMD 株と NcSAG1KO 株を基盤としたベクター開発への可能性が期待される。



【図5】(A) BALB/c(オス)に $10^6$ 原虫を感染させ、60日までマウスの生存を観察し、生存率を算出した。(B) 妊娠8日のBALB/c(メス)に $10^5$ 原虫を感染させ、新生マウスの生存を生後30日観察し、生存率を算出した。\*  $P < 0.05$ , Log-rank test

## (2) ネオスポラ接種による抗腫瘍効果の検証

ネオスポラ接種による抗腫瘍効果の誘導を確認するために、マウスを用いたがん細胞移植モデルを構築した。CT26 細胞移植マウスの腫瘍近傍に親株原虫を接種したところ、有意に腫瘍の成長が抑制された (図 6)。腫瘍組織の mRNA 発現解析と免疫組織科学的解析により、ネオスポラの感染初期にガスダーミン D が関与するパイロトーシスが起これ、強い免疫反応が引き起こされ、抗腫瘍免疫が誘導された可能性が示唆された。



【図6】BALB/c(メス)の背側皮下にCT26がん細胞を移植し、各原虫数を腫瘍近傍に接種した。がん細胞接種後44日まで腫瘍容積を計測した。\*, one-way ANOVA plus Tukey-Kramer hoc test

本研究により、遺伝子編集技術を用いたネオスポラの弱毒化に成功し、ネオスポラ感染による抗腫瘍効果を確認した。今後は作製した弱毒株を用いて、難治性原虫病の制圧及びがんワクチンへの検証を進める。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 12件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Abdelbaky HH, Mitsuhashi S, Watanabe K, Ushio N, Miyakawa M, Furuoka H, Nishikawa Y	4. 巻 13
2. 論文標題 Involvement of chemokine receptor CXCR3 in the defense mechanism against <i>Neospora caninum</i> infection in C57BL/6 mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Microbiol.	6. 最初と最後の頁 1045106
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2022.1045106	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 -
1. 著者名 Udonsom R, Reamtong O, Adisakwattana P, Popruk S, Jirapattharasate C, Nishikawa Y, Inpankaew T, Toompong J, Kotepui M, Mahittikorn A	4. 巻 29
2. 論文標題 Immunoproteomics to identify species-specific antigens in <i>Neospora caninum</i> recognised by infected bovine sera.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasite	6. 最初と最後の頁 60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1051/parasite/2022059	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 Abdou AM, Seddek AS, Abdelmageed N, Badry MO, Nishikawa Y	4. 巻 84
2. 論文標題 Extracts of wild Egyptian plants from the desert inhibit the growth of <i>Toxoplasma gondii</i> and <i>Neospora caninum</i> in vitro.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Vet Med Sci.	6. 最初と最後の頁 034-1040
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1292/jvms.22-0159	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 Abdou AM, Ikeda R, Watanabe K, Furuoka H, Nishikawa Y	4. 巻 89
2. 論文標題 Role of dense granule antigen 7 in vertical transmission of <i>Neospora caninum</i> in C57BL/6 mice infected during early pregnancy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitol Int	6. 最初と最後の頁 102576
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2022.102576	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 Hasan T, Kawanishi R, Akita H, Nishikawa Y	4. 巻 10
2. 論文標題 Toxoplasma gondii GRA15 DNA Vaccine with a Liposomal Nanocarrier Composed of an SS-Cleavable and pH-Activated Lipid-like Material Induces Protective Immunity against Toxoplasmosis in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Vaccines	6. 最初と最後の頁 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/vaccines10010021	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 Fereig RM, Abdelbaky HH, Nishikawa Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Comparative Evaluation of Four Potent Neospora caninum Diagnostic Antigens Using Immunochromatographic Assay for Detection of Specific Antibody in Cattle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 2133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9102133	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 El-Alfy ES, Ohari Y, Shimoda N, Nishikawa Y	4. 巻 92
2. 論文標題 Genetic characterization of Neospora caninum from aborted bovine fetuses in Hokkaido, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Infect Genet Evol	6. 最初と最後の頁 104838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.meegid.2021.104838	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 Fereig RM, Abdelbaky HH, Nishikawa Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Vaccination with Neospora GRA6 Interrupts the Vertical Transmission and Partially Protects Dams and Offspring against Neospora caninum Infection in Mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Vaccines	6. 最初と最後の頁 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/vaccines9020155	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 Elazab ST, Soliman AF, Nishikawa Y.	4. 巻 83
2. 論文標題 Effect of some plant extracts from Egyptian herbal plants against <i>Toxoplasma gondii</i> tachyzoites in vitro.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Vet Med Sci.	6. 最初と最後の頁 100-107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0458	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 Nishida A, Ikeda R, Furuoka H, Nishikawa Y.	4. 巻 89
2. 論文標題 CXCR3-Dependent Immune Pathology in Mice following Infection with <i>Toxoplasma gondii</i> during Early Pregnancy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Infect Immun.	6. 最初と最後の頁 e00253-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/IAI.00253-20	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 -

1. 著者名 Ihara F, Fereig RM, Himori Y, Kameyama K, Umeda K, Tanaka S, Ikeda R, Yamamoto M, Nishikawa Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 <i>Toxoplasma gondii</i> Dense Granule Proteins 7, 14, and 15 Are Involved in Modification and Control of the Immune Response Mediated via NF- $\kappa$ B Pathway.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 1709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.01709	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 -

1. 著者名 Fereig RM, Nishikawa Y.	4. 巻 216
2. 論文標題 Urological detection of specific antibodies against <i>Neospora caninum</i> infection in mice: A prospect for novel diagnostic approach of <i>Neospora</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Exp Parasitol.	6. 最初と最後の頁 107942
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.01709	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 Lin MH, Yu TA, Chang CF, Nishikawa Y, Hsu CH.	4. 巻 14
2. 論文標題 NMR resonance assignments of the programmed cell death protein 5 (PDCD5) from <i>Toxoplasma gondii</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomol NMR Assign.	6. 最初と最後の頁 277-280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12104-020-09961-8	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 Maeta M, Miura N, Tanaka H, Nakamura T, Kawanishi R, Nishikawa Y, Asano K, Tanaka M, Tamagawa S, Nakai Y, Tange K, Yoshioka H, Harashima H, Akita H.	4. 巻 17
2. 論文標題 Vitamin E Scaffolds of pH-Responsive Lipid Nanoparticles as DNA Vaccines in Cancer and Protozoan Infection.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Pharm.	6. 最初と最後の頁 1237-1247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01262	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 -

1. 著者名 Ybanez RHD, Nishikawa Y.	4. 巻 76
2. 論文標題 Serological detection of <i>T. gondii</i> infection in humans using an immunochromatographic assay based on dense granule protein 7.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitol Int.	6. 最初と最後の頁 102089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102089	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 -

1. 著者名 Ybanez RHD, Kyan H, Nishikawa Y.	4. 巻 82
2. 論文標題 Detection of antibodies against <i>Toxoplasma gondii</i> in cats using an immunochromatographic test based on GRA7 antigen.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Vet Med Sci.	6. 最初と最後の頁 441-445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0654	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 -

1. 著者名 Abdelbaky HH, Nishimura M, Shimoda N, Hiasa J, Fereig RM, Tokimitsu H, Inokuma H, Nishikawa Y.	4. 巻 75
2. 論文標題 Evaluation of Neospora caninum serodiagnostic antigens for bovine neosporosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitol Int.	6. 最初と最後の頁 102045
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2019.102045	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 -

1. 著者名 Ybanez RHD, Ybanez AP, Nishikawa Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Review on the Current Trends of Toxoplasmosis Serodiagnosis in Humans. (Review)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Cell Infect Microbiol.	6. 最初と最後の頁 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2020.00204	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 Fereig RM, Nishikawa Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 From Signaling Pathways to Distinct Immune Responses: Key Factors for Establishing or Combating Neospora caninum Infection in Different Susceptible Hosts. (Review)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens9050384	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

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Abdou Ahmed , 西川 義文
2. 発表標題 ネオスポラ感染に対する弱毒生ワクチンとしての NcGRA7 欠損株の防御効果
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 潮 奈々子 , 藤原 理央 , 渡邊 謙一 , 古林 与志安 , 西川 義文
2. 発表標題 ウシの新オスポラ感染例における原虫および原虫由来タンパク質の脳内分布
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 潮 奈々子、藤原 理央、渡邊 謙一、古林 与志安、西川 義文
2. 発表標題 ネオスポラ感染における原虫由来タンパク質の脳内分布
3. 学会等名 165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Abdou Ahmed、Seddek Abdel-latif、Abdelmageed Noha、Badry Mohamed、西川 義文
2. 発表標題 Extracts of Egyptian plants inhibit the growth of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in vitro
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fereig Ragab、Abdelbaky Hanan、西川 義文
2. 発表標題 ネオスポラの血清診断用イムノクロマトテストの開発
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	Md. Masudur Rahman、Hanan Abdelbaky、Naomi Shimoda、Tanjla Hasan、Nanako Ushio、Yoshifumi Nishikawa
2. 発表標題	ole of Neospora caninum surface antigen 1 (NcSAG1) in the pathogenesis of neosporosis in non-pregnant and pregnant mice
3. 学会等名	第92回日本寄生虫学会大会
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	西川 義文、Hanan Abdelbaky、三橋 秀一郎、渡邊 謙一、潮 奈々子、宮川 実紅、古岡 秀文
2. 発表標題	ネオスポラ感染に対するケモカイン受容体 CXCR3 の感染防御機構への関与
3. 学会等名	第92回日本寄生虫学会大会
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	Abdou Ahmed、池田 里奈、渡邊 謙一、古岡 秀文、西川 義文
2. 発表標題	Role of dense granule antigen 7 on vertical transmission of Neospora caninum in mice
3. 学会等名	第90回日本寄生虫学会大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	El-Sayed El-Alfy, Yuma Ohari, Naomi Shimoda, Yoshifumi Nishikawa
2. 発表標題	Genetic characterization of Neospora caninum from aborted bovine fetuses in Hokkaido, Japan
3. 学会等名	British Society for Parasitology, Parasites Online 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 Ragab Fereig、下田 直美、Abdelbaky Hanan、西川 義文
2. 発表標題 Immunization with Neospora GRA6 confers efficient protection against Neospora caninum infection in both non-pregnant and pregnant mice
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Abdou Ahmed、池田里奈、古岡秀文、西川義文
2. 発表標題 Possible effects of dense granule protein 7 on vertical transmission of Neospora caninum.
3. 学会等名 第 8 9 回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Abdelbaky Hanan、西村麻紀、下田直美、日浅淳、Fereig Ragab、時光宏三、猪熊壽、西川義文
2. 発表標題 Identification of Neospora caninum serodiagnostic antigens for bovine neosporosis.
3. 学会等名 第 8 9 回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ybanez Rochelle、喜屋武向子、西川義文 .
2. 発表標題 Serological detection of Toxoplasma infection in humans and cats using an immunochromatographic assay based on dense granule protein 7.
3. 学会等名 第 8 9 回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 猪原史成、梅田剛佑、Fereig Ragab、山本雅祐、西川義文.
2. 発表標題 Toxoplasma gondii dense granule protein 7, 14, 15が関与するNF B経路を介した宿主免疫応答による感染病態の制御.
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関口智史、徐剣、西川義文、Abdou Ahmed、朴龍洙
2. 発表標題 Neospora caninum由来のToxofilinタンパク質のワクチン効能に関する研究
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Fereig RM, Nishikawa Y	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Humana New York, NY	5. 総ページ数 360
3. 書名 Methods Mol Biol	

1. 著者名 村上 賢二、彦野 弘一	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 304
3. 書名 家畜伝染病ハンドブック（トキソプラズマ症を執筆）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

帯広畜産大学・原虫病研究センター・西川研究室  
<https://sites.google.com/site/nishihdlab/>  
 帯広畜産大学・原虫病研究センター  
<http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html>  
 帯広畜産大学  
<https://www.obihiro.ac.jp>  
 帯広畜産大学・原虫病研究センター・西川研究室  
<https://sites.google.com/site/nishihdlab/>  
 帯広畜産大学・原虫病研究センター  
<http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html>  
 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  
<https://sites.google.com/site/nishihdlab/>  
 帯広畜産大学・原虫病研究センター  
<http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html>  
 帯広畜産大学  
<https://www.obihiro.ac.jp>

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	渡邊 謙一  (Watanabe Kenichi)  (10761702)	帯広畜産大学・畜産学部・准教授    (10105)	

	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
研究協力者	潮 奈々子  (Ushio Nanako)  (00941428)	帯広畜産大学・原虫病研究センター・特任助教    (10105)	
研究協力者	古岡 秀文  (Furuoka Hidefumi)  (60238665)	帯広畜産大学・畜産学部・教授    (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