

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04589

研究課題名(和文)ネオスポラ病原性因子の同定とワクチン開発への応用

研究課題名(英文)Identification of Neospora virulence factor and its application for the vaccine development

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) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、家畜の繁殖障害を引き起こす病原性原虫ネオスポラの病原性因子を同定し、それを用いたワクチン開発への応用を目的とした。感染による過剰な炎症反応が病原性に関与すると想定し、宿主免疫反応に関与するシグナル伝達を活性化する原虫因子のスクリーニングを実施した。これら活性化因子を欠損させた原虫株は、マウスにおける病原性の低下が確認された。さらに、活性化因子を基に作製したワクチンは、感染防御免疫を誘導することが明らかとなった。ネオスポラに対する治療薬やワクチンが実用化されていない現状を鑑みると、本研究の成果はワクチンの実用化につながる重要な研究成果である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed at identifying virulence factors of *Neospora caninum*, which induces reproductive disorders in livestock, and its application for the vaccine development. Because excess inflammatory response may be involved in pathogenicity, screening of *Neospora* molecules activating host signaling of immune responses was performed. The activating factor-deficient parasites lost the virulence in mice. Furthermore, vaccines based on the activating factor induced protective immune responses. With no effective drugs or vaccines available to control neosporosis, our results will be valuable for the future vaccine development.

研究分野：感染免疫学

キーワード：感染症 ワクチン 免疫 畜産 ネオスポラ

1. 研究開始当初の背景

ネオスポラ (*Neospora caninum*) は犬科動物を終宿主とし、ウシ、ヒツジ、ヤギ、シカなどを中間宿主とする細胞内寄生性原虫である。終宿主の糞便中に排出されるオーシストによる水平感染や中間宿主における垂直感染により伝搬される。特にウシには流産、死産或いは子牛の神経症状を主徴とする異常産を高率に引き起こす。欧米諸国の報告では、牛の流産の約40%の原因はネオスポラ感染によるものとされている (Anderson et al., J Am Vet Med Assoc, 1995)。ネオスポラの垂直感染は何世代にも渡り成立し、このことが本原虫の感染拡大の最大の原因として挙げられる。実際、ネオスポラの感染例が世界中で報告されており、日本においてもその発生が深刻である。我々が独自に調査した過去5年の結果では、現在も日本の畜産農家でネオスポラの感染が蔓延していることが明らかとなっている (2-3割の抗体陽性率)。さらに2010年の独自調査で、1ヶ月に47件の流産が発生した1農家では、そのうち45検体にネオスポラ感染が認められている。ネオスポラの感染した母牛を搾乳に供することができない場合が多く、子牛と搾乳量の損耗などにより、その発生による経済的損失は極めて大きい。地球規模での被害額は年間約数十億USドルにのぼるとの試算もある (Reichel et al., Int J Parasitol, 2012)。ネオスポラ感染による流産は、母牛の免疫機能が低下する妊娠4~6ヶ月での胎盤感染の成立が原因で発生するため、本原虫の感染をコントロールすることは極めて難しい。さらに、原虫に対する移行抗体は感染防御に関与しない。以前に不活化ワクチン (Havlogen- adjuvanted killed vaccine ; NeoGuard™) が海外で市販されていたが、現在は市場から撤退している。このような背景から、いまだにネオスポラ感染症に対する有効な治療法は開発されていないのが現状である。

我々はこれまでに、ネオスポラ感染に対する制御方法と診断方法の開発を目指した基礎研究を展開してきた。ネオスポラ感染の制御には原虫抗原タンパク質に特異的なTh1応答 (T細胞が関与する細胞性免疫) とTh2応答 (抗体が関与する液性免疫) をバランスよく誘導することが必要である。マウスモデルを用いた免疫学的解析により、ネオスポラ感染症の制御にはインターフェロンガンマ (IFN- γ) が誘導するマクロファージの活性化、CD4陽性T細胞およびNKT細胞の重要性を明らかにしている。これらの研究成果により、ワクチン接種により誘導すべき免疫反応が明らかとなった。その成果を基にした我々の応用研究で、NcSRS2やNcGRA7等の抗原性の強いワクチン抗原を複数同定し、マウス実験感染モデルにてワクチン効果を確認した (日本獣医学会・第31号 獣医学奨励賞)。NcGRA7については、ウシ実験感染モデルにて一定の感染防御効果を得ることに成功したが、大型

動物での免疫誘導能が不十分であるという課題が残された。これらの成果は、適切なワクチン抗原を使用すれば、大型動物でもネオスポラの感染制御が可能であることを意味している。ワクチンの実用化を視野に入れた場合には、複数の候補抗原を同定しておくことが必須であり、その抗原と相性の良い抗原デリバリーシステムの選択が重要である。従って、ネオスポラのワクチン開発の鍵は、『新しい発想によるワクチン抗原の発掘』と『ワクチン抗原の特性に適合した抗原デリバリーシステムの開発』に集約される。

2. 研究の目的

我々の最近の研究成果で、ネオスポラ感染による重篤な病態発症には、感染により誘導される過剰な炎症反応が引き金になることを示している。これらの結果は、ネオスポラが産生する特定の分子が免疫細胞を過剰に刺激し、宿主免疫を攪乱する病原性因子として機能することを強く示唆している。従って、ネオスポラの病原性因子を同定し、それを標的にした予防方法・治療方法の開発こそが感染を制御できるという発想に至った。免疫細胞の活性化は病原体を認識するToll様受容体 (TLR) やレクチン受容体等を介したシグナル伝達系が必須である。現在これら受容体に反応するネオスポラ由来分子は同定されていないが、我々はネオスポラ可溶性成分がTLR2/4依存的にマクロファージを活性化させる証拠を得ている。TLR2/4の下流にNF- κ Bシグナルが存在しているため、ネオスポラの未知の分子が本シグナルを刺激する可能性が示唆される。免疫活性化能を有する分子が生体内に多量に存在すれば、組織傷害につながる過剰な炎症反応を誘導する。一方、適度な反応の場合はアジュバントとしての作用を期待することができる。すなわち、ネオスポラの病原性因子をワクチン抗原として適切に利用すれば、効果的に感染を制御できる。病原性因子を用いたワクチンは、誘導される細胞傷害性T細胞が感染細胞を破壊し、特異抗体が病原性因子の機能を阻害するため、感染制御および病態制御が可能となる。

本研究ではネオスポラの病原性因子に着目し、その機能の解明と当該因子を標的にしたワクチン開発を目指す。まず、NF- κ Bシグナルを活性化するネオスポラ分子をスクリーニングする。選定した分子について免疫活性化能を検証し、当該因子を欠損させた組換え原虫を作製して病原性因子としての確証を得る。さらに病原性因子を利用したモデルワクチンを作製し、マウスを用いて感染防御効果を検証する。

3. 研究の方法

(1) 宿主シグナルを活性化するネオスポラ分子のスクリーニング

ネオスポラのデンスグラニュールタンパク質18種類 (NcGRAs)、サイクロフィリン

(NcCyp) 及びプロフィリン (NcPF) を対象に遺伝子の配列情報をデータベース (toxodb.org) より入手し、遺伝子増幅用のプライマーを設計した。原虫株 (Nc1) の cDNA から PCR を行い、哺乳類発現用ベクター p3xFLAG にクローニングした (図 1)。

宿主シグナルとして cAMP/PKA、calcium/calcieneurin、NF- κ B、RhoA 及び核内受容体の刺激に関連するシグナルに着目し、それぞれのシグナルの活性化を検出できるプロモータ領域を導入したレポータープラスミドを導入した (Promega 社製)。cAMP/PKA : cyclic AMP response (CRE)、calcium/calcieneurin : Nuclear factor of activated T-cells response element (NFAT)、NF- κ B : Nuclear factor κ B response element (NF- κ B)、RhoA : Serum response factor response element (SRF)、核内受容体 : Murine mouse mammary virus long terminal repeat (MMTV-LTR) (図 1)。上記レポータープラスミドを細胞へ導入し、当該シグナルが活性化されるとルシフェラーゼ遺伝子が発現する。

FuGENE[®] HD Transfection Reagent (Promega 社製) を用いて、ヒト胎児由来腎臓上皮細胞 (293T 細胞) へネオスポラ cDNA、レポータープラスミド、内部補正用 *Renilla* ルシフェラーゼ発現用プラスミドをトランスフェクションし、その 20 時間後に細胞を回収した。ルシフェラーゼの発現は Dual-Glo[®] Luciferase Assay System (Promega 社製) を用いて測定し、活性化の度合いはネオスポラ cDNA を導入していないサンプルに対する活性比で表した。

(2) 候補分子の遺伝子欠損原虫株の作出と表現型の解析による病原性因子の特定

ネオスポラの遺伝子欠損原虫株の作製は、CRISPR/Cas9 系を応用して実施した。トキソプラズマの UPRT 遺伝子を標的としたシングルガイド RNA (sgRNA) と CAS9 を発現するプラスミドを Addgene 社から入手し、基本プラスミドとした。標的遺伝子の sgRNA の設計は、EuPaGDT (<http://grna.ctegd.uga.edu>) 上で行い、標的 sgRNA と CAS9 を発現する CRISPR/Cas9 プラスミドを作製した。次に、標的遺伝子の挿入部位前後の配列を含む形でピリメタミン耐性遺伝子を PCR により増幅した。原虫株 (Nc1) に CRISPR/Cas9 プラスミドとピリメタミン耐性遺伝子をエレクトロポレーション法により導入した。ピリメタミン存在下で 10-14 日間培養し、生存した原虫を限界希釈法によりクローニングした。原虫株のゲノム DNA を用いた PCR により標的部位へのピリメタミン耐性遺伝子の挿入を確認し、特異抗体を用いたウェスタンブロット法と間接抗体蛍光法により対象タンパク質の発現が無いことを確認した。

作出した対象遺伝子欠損原虫について、in vitro と in vivo での表現型解析を行った。アフリカミドリザル腎臓上皮細胞 (Vero 細

胞) を用いた in vitro 系にて、感染率、増殖率、宿主細胞からの脱出率を親株原虫と比較した。次に、対象遺伝子欠損原虫株及び親株原虫 (Nc1) をマウス (C57BL/6 及び BALB/c) に感染 (1×10^6 原虫/マウス) させ、マウスの生存、臨床症状 (虚脱、神経症状、毛の逆立ち) を 60 日間観察し、病原性の違いを解析した。

(3) モデルワクチンの感染防御効果の評価

対象遺伝子について、原虫株 (Nc-1) の cDNA から PCR を行い、大腸菌発現用ベクター pGEX4T-1 にクローニングした。本ベクターを大腸菌 (DH5 α 株) へ導入し、glutathione S-transferase (GST) 融合タンパク質として発現させ、グルタチオン樹脂を用いて組換えタンパク質を精製した。精製タンパク質はエンドトキシンを除去し、フィルターによる濾過滅菌を行った。次に、マンノース糖鎖被覆リポソーム (OML) 内へ組換えタンパク質を封入したモデルワクチンを作製した。

感染モデルは非妊娠マウスと妊娠マウスを用いた。非妊娠マウスを用いる場合、ワクチン接種後 (10 pmol 組換えタンパク質、2 週間隔、計 3 回)、ネオスポラ 1×10^6 個をマウスに腹腔内感染させた。感染後経時的にマウスの生存、臨床症状 (虚脱、神経症状、毛の逆立ち) を観察し、感染後 30-32 日目に脳組織を採材した。脳組織から DNA を抽出し、原虫数を定量する PCR によりワクチン効果を評価した。

妊娠マウスを用いる場合、BALB/c マウスにワクチン接種後 (10 pmol 組換えタンパク質、2 週間隔、計 3 回) 交配させ、妊娠 10 日目にネオスポラ 1×10^5 個を腹腔内感染させた。妊娠率、出生数、生後 30 日間の新生マウス生存率を計測し、ネオスポラの垂直感染に対する阻止効果を検証した。

	CRE	NFAT	NFKB	SRF	MMTV-LTR
NcGRA1	0.99	0.86	0.87	0.57	0.89
NcGRA2	1.35	1.20	1.16	0.71	1.00
NcGRA3	0.91	0.93	0.84	0.60	1.01
NcGRA4	1.02	1.09	0.94	0.82	0.95
NcGRA5	1.22	1.18	1.21	0.89	1.50
NcGRA6	5.45	7.24	17.70	0.86	1.51
NcGRA7	1.49	4.17	1.25	1.15	1.06
NcGRA8	0.73	1.08	1.30	0.72	1.52
NcGRA9	1.19	1.37	1.29	1.25	1.03
NcGRA10	1.18	1.19	1.28	1.20	0.89
NcGRA12	1.08	1.59	1.11	1.11	1.67
NcGRA14	11.15	7.48	0.89	0.74	1.51
NcGRA16	1.19	1.00	1.22	1.31	1.13
NcGRA17	1.45	2.40	1.04	1.99	0.67
NcGRA21	1.53	1.50	1.30	1.12	0.73
NcGRA22	1.24	1.35	1.04	1.28	0.71
NcGRA23	1.24	1.23	1.08	0.96	0.69
NcGRA25	1.46	2.75	1.04	0.86	0.81
NcCyp	1.18	1.09	1.23	0.92	0.98
NcPF	1.16	1.09	1.23	0.92	0.98

図 1 ネオスポラ因子による宿主シグナル活性化の測定

4. 研究成果

(1) 宿主シグナルを活性化するネオスポラ分子のスクリーニング

ネオスポラのデンスグラニュルタンパク質 18 種類 (NcGRAs)、NcCyp 及び NcPF の宿主シグナル活性化を解析したところ、NcGRA6 は CRE、NFAT、NF- κ B の活性化、NcGRA7 は NFAT の活性化、NcGRA14 は CRE と NFAT の活性化に関与していることが示された (図 1)。

(2) 候補分子の遺伝子欠損原虫株の作出と表現型の解析による病原性因子の特定

宿主シグナルの活性化に関与する NcGRA6、NcGRA7、NcGRA14 ついて、CRISPR/Cas9 系を用いて遺伝子欠損原虫株を作出した。我々の先行研究では NcCyp の免疫活性化能が示されていたため (Kameyama et al., Parasitology. 2012)、NcCyp 欠損原虫株も作製した。In vitro における原虫株の表現型解析を行ったところ、親株原虫に比べて増殖率に違いは見られなかったが、NcGRA14 欠損原虫株と NcCyp 欠損原虫株の感染率の増加が認められた。

次に、遺伝子欠損原虫株及び親株原虫 (Nc1) を C57BL/6 マウスに感染させ、マウスの生存、臨床症状 (虚脱、神経症状、毛の逆立ち) を 60 日間観察した。マウスの生存率は、Nc1: 1/6 (16.7%) ; NcGRA6KO: 3/6 (50.0%) ; NcGRA7KO: 6/6 (100%) ; NcGRA14KO: 1/6 (16.7%) ; NcCypKO: 1/6 (16.7%) となり、NcGRA7 欠損原虫株で最も病原性が低下し、NcGRA6 欠損原虫株でも一定の病原性の低下が認められた (図 2)。

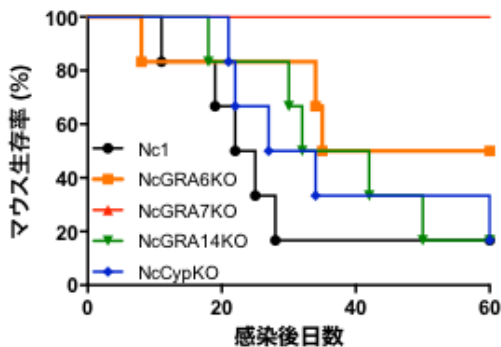


図 2 遺伝子欠損原虫株の感染に対する C57BL/6 マウスの生存率

BALB/c マウスでも同様に病原性比較試験を実施したところ、マウスの生存率は Nc1: 2/6 (33.3%) ; NcGRA6KO: 2/6 (33.3%) ; NcGRA7KO: 5/6 (83.3%) ; NcGRA14KO: 4/6 (66.7%) ; NcCYPKO: 1/6 (16.7%) であり、NcGRA7 欠損原虫株にて最も病原性が低下し、NcGRA14 欠損原虫株でも一定の病原性の低下が認められた。以上の結果より、ネオスポラ感染の病原性における NcGRA7 の関与が強く示唆された。

(3) モデルワクチンの感染防御効果の評価

我々の先行研究で、NcGRA7 を封入した OML

モデルワクチンはマウスとウシにおいてネオスポラに対する感染防御効果を誘導することが明らかにされている (Nishikawa et al., Clin Vaccine Immunol. 2009 ; Nishimura et al., Vaccine. 2013)。本研究コンセプトは病原性因子を利用したモデルワクチンの作製であり、NcGRA7 で得られた結果によりその妥当性を証明することができた。

次に別の候補因子である NcGRA6 に関する感染防御効果を検証した。NcGRA6 精製タンパク質をマクロファージに作用させたところ、炎症性サイトカイン IL-12 の産生を誘導することが明らかとなり、NcGRA6 の免疫刺激活性が推測された。NcGRA6 単独、NcGRA6 封入 OML のマウスにおける免疫活性化能を比較したところ、NcGRA6 単独の免疫でも十分な特異抗体の産生及び脾臓細胞の活性化を誘導できることが確認された。非妊娠 BALB/c マウスを用いてワクチン評価試験を実施したところ、マウスの生存率は PBS: 2/12 (16.7%)、GST 封入 OML: 3/12 (25%)、NcGRA6: 11/12 (91.7%)、NcGRA6 封入 OML: 10/12 (83.3%) であった (図 3)。

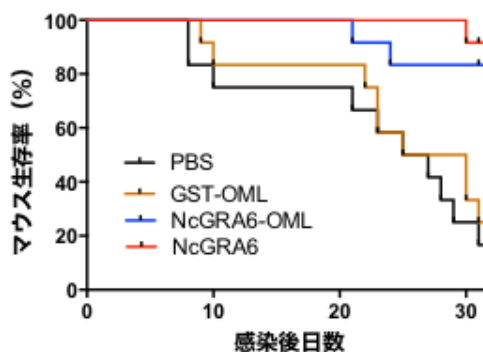


図 3 NcGRA6 のワクチン評価試験

体重変動を含めた臨床症状の観察では、NcGRA6 単独免疫で最も良好な結果が認められた。本結果を受けて妊娠マウスにおける NcGRA6 単独免疫のワクチン評価試験を実施した。マウスの妊娠率は、PBS: 2/5 (40%)、GST: 2/6 (33.3%)、NcGRA6: 4/5 (80%) であり、新生マウスの生存率は、PBS: 0/14 (0%)、GST: 0/12 (0%)、NcGRA6: 8/22 (36.4%) であった。従って、NcGRA6 単独免疫はネオスポラの垂直感染の防御に一定の効果を示すことが明らかとなった (特願 2017-252032)。

NcCyp についても OML ワクチンを作製し、感染防御効果を検証した。NcCyp 単独では免疫刺激活性は認められなかったが、NcCyp 封入 OML はマクロファージの NF- κ B シグナルを活性化し、IL-12 産生を誘導することが明らかとなった。この結果と連動して、NcCyp 封入 OML の免疫はマウスにおける特異抗体の産生及び脾臓細胞の活性化を誘導した。非妊娠 BALB/c マウスを用いてワクチン評価試験を実施したところ、マウスの生存率は PBS: 2/12 (16.7%)、NcCyp 封入 OML: 10/12 (83.3%)、NcCyp: 8/12 (66.7%) であった (図 4)。

封入 OML の効果は C57BL/6 マウスでも確認でき、マウスの生存率は PBS; 3/7 (42.9%)、NcCyp-封入 ML; 5/7 (71.4%)、NcCyp; 4/7 (57.7%) であった。

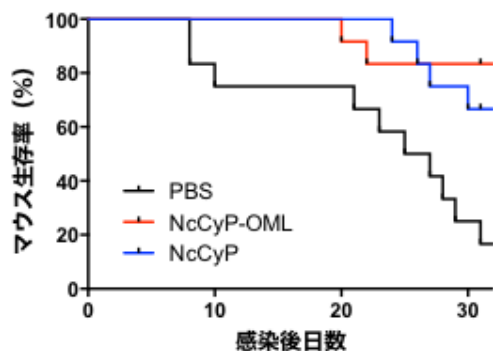


図4 NcCypのワクチン評価試験

本研究期間では非妊娠マウスを用いた急性感染モデルと妊娠期感染モデルでワクチン効果を検証したが、ネオスポラ症の重要な病態として神経症状が挙げられる (1, 2)。我々はネオスポラ感染による神経症状発症モデルをマウス感染系で確立し、その病態に関与する神経伝達物質の異常な産生パターンと神経機能に関連した遺伝子の発現減少を見出した (7)。今後は神経症状発症モデルにおけるワクチン効果を検証することも、重要な研究課題となる。

また、ネオスポラのワクチン開発を進める際に、その近縁原虫であるトキソプラズマの抗原情報は大いに活用できる。トキソプラズマのペルオキシレドキシシン (TgPrx1, TgPrx2) は免疫細胞を活性化させ、トキソプラズマに対する防御免疫を誘導することが明らかとなった (3, 5)。ペルオキシレドキシシンの相同遺伝子はネオスポラのゲノム上にも存在しており、ネオスポラ由来ペルオキシレドキシシンの研究により新規ワクチン抗原としての可能性を検証する必要がある。

ワクチン効果を増強する方法として治療薬との併用も考えられる。治療薬の探索手段としては、天然生物資源あるいは化合物からのスクリーニングが挙げられる。今回、タイのコショウ科植物の抽出物がネオスポラの治療効果を有することが明らかとなった (4)。また、ネオスポラは植物ホルモンのアブシジン酸を産生することが示され、その合成阻害剤フルリドンは抗ネオスポラ作用を持つことが明らかとなった (6)。以上より、将来的にはネオスポラ治療薬とワクチンの併用療法を検討することにより、より効果的なネオスポラ感染に対する制圧方法の開発が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1. Uesaka K, Koyama K, Horiuchi N, Kobayashi Y, Nishikawa Y, Inokuma H. A clinical case of neosporosis in a 4-week-old holstein friesian calf which developed hindlimb paresis postnatally. J Vet Med Sci. 2018; 80: 280-283. doi: 10.1292/jvms. 17-0205. 査読有
2. Uesaka K, Inokuma H, Horiuchi N, Kobayashi Y, Furuoka H, Nishikawa Y. Detection of anti-*Neospora caninum* antibody in serum and cerebrospinal fluid from a calf with neosporosis. Japanese Journal of Veterinary Parasitology 2017; 16: 18-21. https://jsvp-hp.blogspot.jp/p/blog-page_20.html 査読有
3. Fereig RM, Kuroda Y, Terkawi MA, Mahmoud ME, Nishikawa Y. Immunization with *Toxoplasma gondii* Peroxiredoxin 1 Induces Protective Immunity against Toxoplasmosis in Mice. PLoS One. 2017; 12: e0176324. doi: 10.1371/journal.pone.0176324. 査読有
4. Leesombun A, Boonmasawai S, Nishikawa Y. Effects of Thai piperaceae plant extracts on *Neospora caninum* infection. Parasitol Int. 2017; 66: 219-226. doi: 10.1016/j.parint.2017.01.017. 査読有
5. Fereig RM, Nishikawa Y. Peroxiredoxin 3 promotes IL-12 production from macrophages and partially protects mice against infection with *Toxoplasma gondii*. Parasitol Int. 2016; 65: 741-748. doi: 10.1016/j.parint.2016.09.008. 査読有
6. Ybanez RH, Leesombun A, Nishimura M, Matsubara R, Kojima M, Sakakibara H, Nagamune K, Nishikawa Y. *In Vitro* and *In Vivo* Effects of the phytohormone inhibitor fluridone against *Neospora caninum* infection. Parasitol Int. 2016; 65: 319-322. doi: 10.1016/j.parint.2016.03.009. 査読有
7. Ihara F, Nishimura M, Muroi Y, Furuoka H, Yokoyama N, Nishikawa Y. Changes in neurotransmitter levels and expression of immediate early genes in brain of mice infected with *Neospora caninum*. Sci Rep. 2016; 6: 23052. doi: 10.1038/srep23052. 査読有

[学会発表] (計6件)

1. 西川義文、ネオスポラ症の病態発生機序と防御法に関する研究、第159回日本獣医学会学術集会、2016年
2. 上坂花鈴、西川義文、猪熊 壽、牛の血清および脳脊髄液中ネオスポラ抗体の診断的意義の検討、第159回日本獣医学会学術集会、2016年

3. Arpron Leesombun, Sookruetai Boonmasawai, 西川義文、トキソプラズマおよびネオスポラに対するタイ産コシヨウ科植物由来エタノール抽出物の抗原虫効果、第158回日本獣医学会学術集会、2015年
4. 西村麻紀、田中沙智、猪原史成、室井喜景、山岸潤也、古岡秀文、鈴木穰、西川義文。Transcriptome and Histopathological Changes in Mouse Brain Infected with *Neospora caninum*、第158回日本獣医学会学術集会、2015年
5. Yoshifumi Nishikawa, Alaa Terkawi, Sachi Tanaka, Yasuhiro Kuroda, Naoya Kojima: Vaccine efficacy of oligomannose-coated liposomes against *Toxoplasma* and *Plasmodium* infection、第25回 World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology、2015年
6. 猪熊壽、中島永成、岩澤裕介、堀内雅之、古林与志安、西川義文、後軀麻痺を呈した4週齢のホルスタイン種子牛におけるネオスポラ症の1症例、第46回日本家畜臨床学会学術集会、2015年

[図書] (計3件)

1. Nishikawa Y. Towards a Preventive Strategy for Neosporosis: Challenges and Future Perspectives for Vaccine Development Against Infection with *Neospora caninum*. J Vet Med Sci. 2017; 79: 1374-1380. doi: 10.1292/jvms. 17-0285.
2. 西川義文、緑書房、寄生虫病学、2017年、pp. 47-49
3. Fereig RM, Nishikawa Y. Towards a Preventive Strategy for Toxoplasmosis: Current Trends, Challenges, and Future Perspectives for Vaccine Development. Methods Mol Biol. 2016; 1404: 153-164. doi: 10.1007/978-1-4939-3389-1_10.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：アジュバント
 発明者：西川義文、ラガブ マッハルーフ マハムッド フェレイク
 権利者：帯広畜産大学
 種類：特許権
 番号：特願2017-252032
 出願年月日：2017年12月27日
 国内外の別：国内

[その他]

受賞歴：
 受賞名：2016-2017年度日本獣医学会賞（日

本獣医学会) 第120号
 受賞テーマ：ネオスポラ症の病態発生機序と防御法に関する研究
 受賞年：2016年(平成28年9月7日)

ホームページ：

研究室 HP: <https://sites.google.com/site/nishihdlab/>
 原虫病研究センターHP: <http://www.obihiro.ac.jp/~protozoa/index.html>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

五十嵐 慎 (IGARASHI Makoto)
 帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授
 研究者番号：60374766

黒田 泰弘 (KURODA Yasuhiro)
 東海大学・工学部・准教授
 研究者番号：40398756

(4) 研究協力者

猪原 史成 (IHARA Fumiaki)
 ラガブ フェレイク (Ragab Fereig)
 アポーン リーソムブン (Arpron Leesombun)