

令和 5 年 5 月 31 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：2018～2022

課題番号：18KK0188

研究課題名（和文）トルコにおける家畜バベシア症に対するゲノム疫学調査と実践的制御戦略の確立

研究課題名（英文）Genomic epidemiological survey on livestock babesiosis in Turkey and establishment of practical control strategy

研究代表者

玄 学南（XUAN, Xuenan）

帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授

研究者番号：10292096

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：（1）トルコ中部地域を中心に、広範囲にわたり、馬・牛・羊・山羊におけるマダニ媒介原虫の分調査を行った。（2）トルコに最も広く分布し、経済的に脅威になっている羊バベシア（*B. ovis*）を特定分離した。（3）*B. ovis*の全ゲノム配列を解読し、ゲノムデータベースを構築した。（4）ゲノムデータベースに基づいて主要抗原解析を行い、有望な抗原分子（BoSA1/BoSA2）を特定した。（5）組換えBoSA1/BoSA2をベースとした特異抗体検出用ELISAと血液中に循環している分泌抗原BoSA1/BoSA2検出用ELISAを確立した。（6）これらの方法が野外における社会実装可能であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究では、トルコにおける羊に広範に流行し、もっとも大きな経済損失を与えているバベシア株を特定し、その全ゲノムの解析を行い、ゲノムデータベースを構築した。このゲノムデータベースに基づいて有望な診断抗原分子BoSA1/BoSA2を特定し、組換えBoSA1/BoSA2をベースとした羊バベシア症に対する迅速診断法を確立した。この診断法を有効利用することにより今後羊バベシア症を迅速・正確に診断し、その対策を講ずる上で、画期的なことになると期待される。

研究成果の概要（英文）：(1) We conducted a molecular survey of tick-borne protozoan diseases in horses, cattle, sheep, and goats over a wide area, mainly in the central region of Turkey. As a result, it was found that protozoa of the genus *Babesia* and *Theileria* spp. infect these domestic animals at high rates. (2) We isolated the sheep *Babesia* (*B. ovis*), which is most widely distributed in Turkey and poses an economic threat, and established an experimental infection system using sheep. (3) We analyzed the entire genome sequence of *B. ovis* and constructed a genome database. (4) Based on the genome database, we identified promising antigen molecules (BoSA1/BoSA2: merozoite surface/secretory antigens). (5) ELISAs for detecting specific antibody or sculpting antigens based on recombinant BoSA1/BoSA2 were established. (6) These method will contribute to control ovine babesiosis effectively in Turkey.

研究分野：獣医原虫病学

キーワード：バベシア症 マダニ媒介 家畜 疫学調査 ゲノム解析 トルコ 診断法 制御法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

家畜バベシア症流行実態調査の重要性: 海外で多発している多種多様な動物感染症のなかで、マダニ媒介原虫感染症はその畜産業に与える被害の深刻さから獣医学領域では特に注目されている。実際、マダニにより媒介されるバベシア症とタイレリア症による被害は、それぞれ「発展途上国における家畜疾病トップ 20」の上位にランクインされている [de Waal, OIE, 2000]。特にバベシア原虫は牛・馬・羊など家畜に重度の貧血・黄疸を主徴とする致死感染を引き起こし、世界中の畜産業の脅威となっている。家畜バベシア症の多くは日本では法定伝染病（海外悪性伝染病）として指定されており、一旦国内に侵入すれば広く蔓延・浸潤することが懸念される（実際媒介能をもつマダニ種は国内にも存在する）。したがって、海外における家畜バベシア症の流行実態の調査と有効な制御戦略の確立は、「国際貢献」のみならずこれら原虫の侵入から日本を守るための「自己防衛」（先回り研究）としても重要である。

トルコを疫学調査地域として選んだ背景: 家畜バベシア症を効率良く制御するには、「バベシア原虫がいつ、どのようにある地域に定着し、そしてどのように周辺地域に拡散して行くのか？」をグローバルかつ歴史的視点から俯瞰し、流行実態を解析することが重要となる。トルコは、ヨーロッパとアジア大陸に跨っており、また、南から西及び北の三方は、地中海、エーゲ海、黒海に囲まれている。昔から東（西アジア）西（東ヨーロッパ）南（中東・北アフリカ）北（旧ソ連）の家畜交易の中心地（シルクロードの中継地）として栄えてきた[図 1 を参照]。このような地政学的特徴から、トルコにおける家畜バベシア症の疫学調査は、グローバルな視点（空間的）だけでなく歴史的視点（時空的）から流行実態を俯瞰し、制御戦略を講ずる上で極めて重要な意義を持つ。

研究課題の核心をなす学術的な「問い」

家畜バベシア症の疫学調査や制御法に関する報告は、研究代表者によるものも含め数多く報告されている。しかし、「流行実態の解明」と「有効な制御法の開発」をリンクした体系的な研究はほとんど見当たらない。本研究課題における核心をなす学術的「問い」は、「バベシア原虫がいつ、どのようにある地域に定着し、そしてどのように周辺地域に拡散していくのか？」という疫学・進化的視点の問いと、その知見に立脚した「流行地域即応型制御法の創出は可能か？」という対策構築視点の問いの二つである。この二つの「問い」に科学的な答えを見出すことにより、家畜バベシア症を有効に制御できる真のブレイクスルーの実現が期待できる。

### 2. 研究の目的

本研究では、古来よりアジア・ヨーロッパ・中東などの家畜交易中継地として知られるトルコにおける家畜バベシア症の流行実態の解明と、現地即応型の実践的制御戦略の構築を目指して企画した。具体的達成目標として、広範囲の実地疫学調査と主要流行原虫株の特定・分離、主要流行株の全ゲノム解読とデータベースの構築、流行地域に適した新規治療薬・組換えワクチンの開発を掲げる。

### 3. 研究の方法

広範囲の実地疫学調査と主要流行原虫株の特定・分離: トルコ全国 15 県において、家畜(牛・馬・羊・山羊)の血液サンプルとマダニサンプルを採集し、家畜体内とマダニ体内に寄生しているバベシア属原虫を検出した。

主要流行株の全ゲノム解読とデータベースの構築：羊に流行している *Babesia ovis* を分離し、実験室で羊による体内継代系を確立した。*B. ovis* の全ゲノム DNA を抽出し次世代シーケンサー（MinION）による全塩基配列を解読した。

流行地域に適した新規診断法の確立と社会実装：ゲノムデータベースより分泌抗原と推定される BoSA1 と BoSA2 を特定し、クローニングした。組換え BoSA1 と BoSA2 をベースとした抗体検出用 ELISA 法と血液中の循環抗原検出用 ELISA を確立し、トルコにおける羊バベシア症の野外調査に適した実践的診断法として提案した。

#### 4．研究成果

（１）トルコ中部地域を中心に、広範囲にわたり、馬・牛・羊・山羊におけるまだに媒介原虫病の分調査を行った。その結果、*Babesia* 属とタイレリア属の原虫がこれらの家畜に高率に感染していることが判明した。（２）トルコに最も広く分布し、経済的に脅威になっている羊バベシア（*B. ovis*）を特定分離し、羊を用いた実験感染系を確立した。（３）*B. ovis* の全ゲノム配列を解読し、ゲノムデータベースを構築した。（４）ゲノムデータベースに基づいて主要抗原解析を行い、有望な抗原分子を特定した（BoSA1/BoSA2：メロゾイト表面・分泌抗原）。（５）組換え BoSA1/BoSA2 をベースとした特異抗体検出用 ELISA と血液中に循環している分泌抗原 BoSA1/BoSA2 検出用 ELISA を確立した。（６）これらの方法の有効性を実証し、今後トルコにおける羊バベシア症の迅速診断法の社会実装の実現のための基盤作りに成功した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 7件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Ceylan et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 Asurvey on equine tick-borne diseases: The molecular detection of Babesia ovis DNA in Turkish racehorses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ticks Tick Borne Dis	6. 最初と最後の頁 101784
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ttbdis.2021.101784	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 Ji et al.	4. 巻 11
2. 論文標題 Protozoan and rickettsial pathogens in ticks collected from infested cattle from Turkey	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 500
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens11050500	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 Ceylan O et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Primary tick-borne pprotozoan and rickettsial infections of animals in Turkey	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens10020231	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 Cenlan O et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Tick-borne hamoparasites of sheep: A molecular research in Turkey	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pahtogens	6. 最初と最後の頁 162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens10020162	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 Benedicto et al.	4. 巻 65
2. 論文標題 Molecular detection and assessment of risk factors for tick-borne diseases in sheep and goats from turkey	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Parasitol	6. 最初と最後の頁 723-732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2478/s11686-020-00207-0	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 Seven et al.	4. 巻 252
2. 論文標題 Haemoparasitic agents associated with ovine babesiosis: A possible negative interaction between Babesia ovis and Theileria ovis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Vet Parasitol	6. 最初と最後の頁 143-147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetpar.2018.02.013	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 Yamagishi et al.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Whole-genome sequence of Babesia ovis and the diversity of multiplied genes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Cell Infect Microbiol	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Benedicto et al.
2. 発表標題 Molecular survey of tick-borne pathogens among febrile sheep and goats from Turkey
3. 学会等名 第65回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ma et al.
2. 発表標題 Molecular investigation and identification of tick-borne pathogens in ticks infesting goats from T&#252;rkiye
3. 学会等名 第68回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sevenc et al.
2. 発表標題 Ovine babesiosis in Turkey
3. 学会等名 3rd International Symposium on Strategies for the Control of Ticks and Tick-borne Diseases (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sevenc et al.
2. 発表標題 Ovine babesiosis: the main tick-borne disease of sheep in Turkey
3. 学会等名 4th International Symposium on Strategies for the Control of Ticks and Tick-borne Diseases (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	川瀬 撰  (Kawase Osamu)  (40435996)	獨協医科大学・医学部・講師    (32203)	申請当時の役職である。現在の役職は准教授である

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	五十嵐 慎 (Igarashi Makoto) (60374766)	帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授  (10105)	
研究分担者	正谷 達膳 (Masatani Tatsunori) (70614072)	岐阜大学・応用生物科学部・准教授  (13701)	
研究分担者	井口 愛子 (Iguchi Aiko) (90777020)	鳥取大学・農学部・講師  (15101)	申請当時の役職である。現在の役職は准教授である

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