

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業

「抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発」

令和３年度 最終年度報告書

課題番号	17935079
課題名	抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発

研究実施期間	平成２９年度～令和３年度（５年間）
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
研究総括者	川島 健司
研究総括者 連絡先	TEL : 029-838-7713
	FAX : 029-838-7907
	E-mail : kawaken@affrc.go.jp
共同研究機関	国立大学法人 北海道大学大学院
	国立大学法人 東海国立大学機構 岐阜大学
	国立大学法人 東北大学大学院農学研究科食と農免疫国際教育センター
	麻布大学獣医学部
	北海学園大学工学部
	酪農学園大学獣医学群

＜別紙様式 3＞最終年度報告書

令和3年度 安全な農畜水産物安定供給のための
包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業
「薬剤耐性問題に対応した家畜疾病防除技術の開発」のうち
「抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発」

1 研究目的

「薬剤耐性対策アクションプラン」及び「科学技術イノベーション総合戦略2016」において新たな予防・治療法等の開発研究や家畜疾病対策等による低コスト生産技術の開発研究が推進されている。本研究課題では、家畜常在疾病の発生予防や症状軽減、病原体まん延防止のための技術を開発する。

このため、本研究では、

1. 細胞性免疫を誘導可能なサルモネラワクチンの研究開発
2. 豚丹毒菌を利用した豚ベクターワクチンの開発
3. 免疫制御因子を標的としたヨーネ菌排菌抑制法の開発
4. 難治性乳房炎に対する発症制御法の開発
5. ウイルス様粒子作製技術を応用したトリアデノウイルスワクチンの開発
6. 豚流行性下痢ウイルス増殖性関連領域の特定による低病原性化技術の開発
7. BLV感染率の高い農場での効率的な摘発技術確立に資する新規バイオマーカーの開発
8. 牛伝染性リンパ腫におけるPL牛やEBL牛の摘発技術開発
9. 乳中に現れるBLV伝播リスクバイオマーカーの同定

により、既存処方に比べ、感染防除、排菌抑制または発病抑制効果の高いワクチンまたは分子薬のシーズを5個以上開発し、牛伝染性リンパ腫の発病・伝播リスクの高い牛伝染性リンパ腫ウイルス感染牛の摘発可能な病態評価の指標となるバイオマーカーを2個以上同定する。その結果、安全で信頼性の高い畜産物の安定生産が期待される。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 細菌感染症に対する疾病防除技術の開発(江口正浩・農研機構 動物衛生研究部門)

家畜常在疾病の発生予防や症状軽減、病原体まん延防止のため、感染防除、排菌抑制または発病抑制効果の高いサルモネラ症、豚細菌病、豚ウイルス病、牛難治性乳房炎及びヨーネ病に対するワクチンないし分子薬シーズの開発研究を実施する。

(ア) 細胞性免疫を誘導可能なサルモネラワクチンの研究開発

本課題では、家畜のサルモネラ症制圧のための新規ワクチンを開発するため、①菌体成分の中から分子(抗原)の同定、②宿主免疫応答の解析、③ニワトリ及び④豚を用いた防御試験を実施する。

(イ) 豚丹毒菌を利用した豚ベクターワクチンの開発

本課題では、病原性メカニズムが明らかになった豚丹毒菌の弱毒株を利用して、ワクチン接種動物と野外感染動物との識別を可能かつ経鼻、経皮及び経口投与で免疫を誘導できる特性を持つ本株をプラットフォームとし安全な経口投与型ベクターワクチンを開発するため、①豚細菌病ベクターワクチンの研究開発、②豚ウイルス病ベクターワクチンの研究開発、③多価ワクチンの研究開発を実施する。

(ウ) 免疫制御因子を標的としたヨーネ菌排菌抑制法の開発

本課題では、ヨーネ病発症牛における免疫制御因子や免疫制御因子阻害剤等によるサイトカインなどのヨーネ病宿主因子の動態を解析してヨーネ病の免疫回避機構を明らかにし、Programmed death 1 や Programmed death-ligand 1 などの免疫制御因子に対する抗体を用いたヨーネ菌感染牛におけるヨーネ菌排菌抑制技術の開発するため、①ヨーネ病における免疫回避機構の解明、②ヨーネ病における免疫制御因子阻害剤による効果の検証を実施する。

(エ) 難治性乳房炎に対する発症制御法の開発

本課題では、環境性レンサ球菌による乳房炎について、複数の接着因子等の病原因子を対象にしたワクチン抗原を開発し、また乳腺組織に効率よく抗体産生細胞を誘導するアジュバントやワクチン手法をマウス等の実験感染モデルを用いた感染防御試験等により検証し、さらに乳牛の乳房炎モデルを用いてワクチンの感染防御及び病態制御効果を検証することにより、牛の難治性乳房炎に対する発症制御法を開発するため、①環境性レンサ球菌用ワクチン抗原の開発、②実験小動物モデルを用いたワクチン効果の検証、③ウシ乳房炎モデルを用いたワクチン効果の検証を実施する。

2) ウイルス感染症に対する疾病防除技術の開発(大橋誠一・農研機構 動物衛生研究部門)

家畜常在疾病の発生予防や症状軽減、病原体まん延防止のため、感染防除、排菌抑制または発病抑制効果の高いトリアデノウイルス症及び豚流行性下痢のワクチンシーズの開発研究を実施する。

(ア) ウイルス様粒子作製技術を応用したトリアデノウイルスワクチンの開発

本課題では、バキュロウイルス発現系によるウイルス様粒子作製技術を用いて、トリアデノウイルスに対するウイルス様粒子等の組換えタンパク質を作製し、その防御効果の評価を行ってワクチン候補の作出を試みるため、①主要抗原タンパ

ク質遺伝子のクローニング、②組換えバキュロウイルスの作出、③組換えタンパク質の精製・性状解析、④組換えタンパク質接種鶏の防御能の検討、⑤組換えタンパク質接種鶏の交差防御能の検討を実施する。

(イ) 豚流行性下痢ウイルス増殖性関連領域の特定による低病原性化技術の開発

本課題では、豚流行性下痢（PED）ウイルス分離株の病原性の違い及び連続継代による弱毒株について、遺伝学的及び生物学的に比較検討することで低病原性の要因を遺伝子レベルで特定する。さらに特定された関連領域について、分子生物学的手法を用いた病原性の制御の可能性を検証するとともに、それらの技術に応用した新たなワクチン開発にも利用可能な基盤的技術を確立するため、①PEDV 野外分離株の解析、②PED ウイルス変異株の作出とそれらの増殖性及び遺伝子解析、③分子生物学的手法による PED ウイルス遺伝子の増殖性関連領域の決定を実施する。

3) 牛伝染性リンパ腫（EBL）の発症・伝播リスク牛の摘発技術の開発（畠間真一・農研機構 動物衛生研究部門）

牛伝染性リンパ腫発症に関連するウイルス遺伝子、宿主遺伝子・タンパク質、免疫担当細胞を解析し牛伝染性リンパ腫の発症・伝播リスク牛の摘発技術を開発する。

(ア) BLV 感染率の高い農場での効率的な摘発技術確立に資する新規バイオマーカーの開発

本課題では、牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）感染牛の病態解析と原因ウイルスの全ゲノム解析による病態進行に関わるウイルスゲノムの変異領域の推定、BLV 持続感染細胞株の分子細胞生物学的解析、及びトランスクリプトーム解析による生体内で増減する転写産物のプロファイリングにより、病態進行の指標として重要な転写産物を見出して、新規のバイオマーカーとなり得るかどうかについて検証するため、①病態解析と原因ウイルスの全ゲノム解析、②BLV 持続感染細胞株の樹立と分子細胞生物学的解析、③トランスクリプトーム解析、④新規バイオマーカー候補の機能解析を実施する。

(イ) 牛伝染性リンパ腫における PL 牛や EBL 牛の摘発技術開発

本課題では、BLV 感染牛の B 細胞のクローナリティ検索、ウイルス型別やプロウイルス挿入部位の検討を行うことに加え、牛伝染性リンパ腫ウイルスの無症状感染牛、持続性リンパ球増多症（PL）牛、牛伝染性リンパ腫（EBL）牛でそれぞれ特異的に発現が増減しているバイオマーカー（核酸、タンパク等）や、免疫細胞の解析等により若齢発症牛発生の鍵となる分子や症状がステージ移行する際に鍵となる分子を同定し、これらマーカー等を指標とした、PL 牛や EBL 牛の摘発技術を開発するため、①クローナリティ検索、②バイオマーカーの検索、③免疫細胞の解析を実施する。

(ウ) 乳中に現れるBLV伝播リスクバイオマーカーの同定

本課題では、乳エクソソームを効率よく分離・精製する方法を確立して乳エクソソームに現れる BLV 伝播リスクバイオマーカーを同定し、BLV 伝播リスクバイオマーカーの検出法を開発するため、①乳エクソソームの効率的な分離・精製法の確立、②乳中の BLV 伝播リスクバイオマーカーの同定、③BLV 伝播リスクバイオマーカー検出法を開発を実施する。

(2) 達成目標

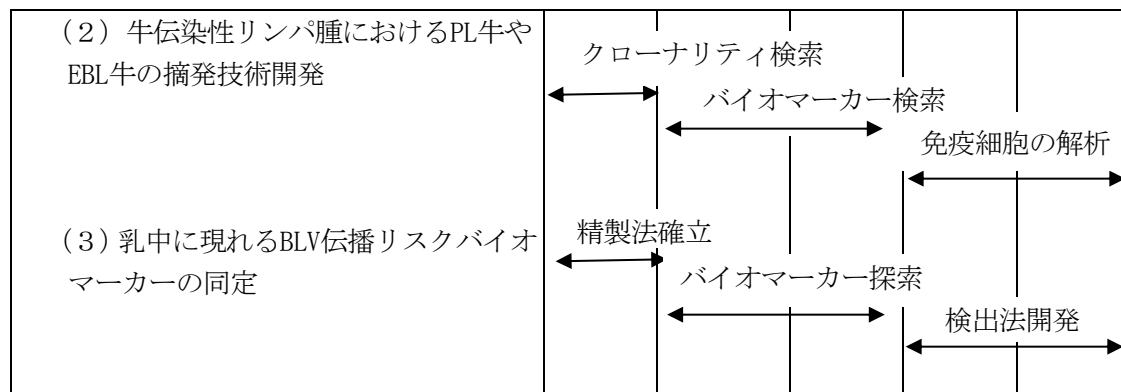
既存処方に比べ、感染防除、排菌抑制または発病抑制効果の高いワクチンまたは分子薬のシーズを5個以上開発し、牛伝染性リンパ腫の発病・伝播リスクの高い牛伝染性リンパ腫ウイルス感染牛の摘発可能な病態評価の指標となるバイオマーカーを2個以上同定する。

(3) 研究開発された成果の取扱い

研究成果を迅速に普及・実用化に移すために、国内外の学術誌、学会に成果を発表するとともに、ワクチン候補抗原については特許申請を行い知財化し、実用化に向けて行政部局及び民間企業との連携を図る。また、牛伝染性リンパ腫ウイルスの課題では、プロジェクト実施中及び終了後に実用化に向けて都道府県の家畜保健衛生所と連携を図る。

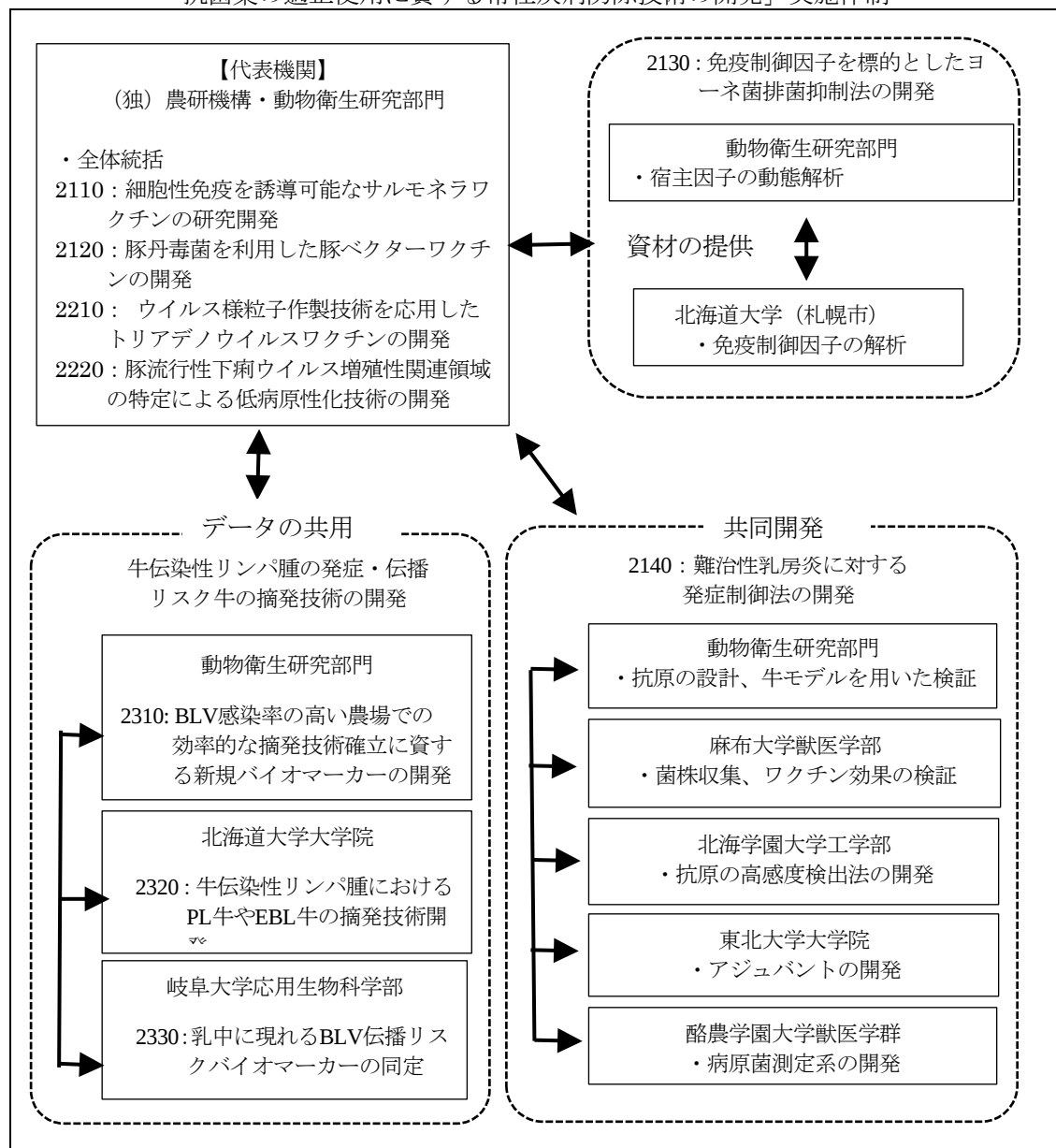
(4) 年次計画

研究課題	研究年度				
	29	30	1	2	3
1. 細菌感染症に対する疾病防除技術の開発					
(1) 細胞性免疫を誘導可能なサルモネラワクチンの研究開発	抗原の同定と宿主応答解析			評価試験	
(2) 豚丹毒菌を利用した豚ベクターワクチンの開発	発現ベクターの作製		評価試験		
(3) 免疫制御因子を標的としたヨーネ菌排菌抑制法の開発	宿主、免疫制御因子の動態解析			実証試験	
(4) 難治性乳房炎に対する発症制御法の開発	抗原作製・評価系作製			評価試験	
2. ウイルス感染症に対する疾病防除技術の開発					
(1) ウイルス様粒子作製技術を応用したトリアデノウイルスワクチンの開発	発現タンパク質の作製			評価試験	
(2) 豚流行性下痢ウイルス増殖性関連領域の特定による低病原性化技術の開発	変異株の作出			評価試験	
3. 牛伝染性リンパ腫（EBL）の発症・伝播リスク牛の摘発技術の開発	ウイルスゲノム解析				
(1) BLV感染率の高い農場での効率的な摘発技術確立に資する新規バイオマーカーの開発	トランスクリプトーム解析			バイオマーカー解析	



(5) 研究体制

「抗菌薬の適正使用に資する常在疾病防除技術の開発」実施体制



(6) 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者	エフォート (%)
	機関	研究室		
研究総括者	動物衛生研究部門	企画連携室	◎川瀧健司	10
1. 細菌感染症に対する疾病 防除技術の開発	動物衛生研究部門	細胞内寄生菌ユニッ ト	○江口正浩	
(1) 細胞性免疫を誘導可 能なサルモネラワクチンの 研究開発	動物衛生研究部門	細胞内寄生菌ユニッ ト	△江口 正浩 中山ももこ (2020. 4～)	30 10
(2) 豚丹毒菌を利用した 豚ベクターワクチンの開発	動物衛生研究部門	細胞内寄生菌ユニッ ト	△小川洋介 西川明芳	25 10
(3) 免疫制御因子を標的 としたヨーネ菌排菌抑制法 の開発	動物衛生研究部門	ヨーネ病ユニット	△永田礼子 川治聡子 大崎慎人 (～ 2019. 3) 上野勇一 (2019. 4 ～) 田中省吾	30 30 5 30 30
	北海道大学大学院	暖地疾病防除ユニッ ト 獣医学研究科	今内 寛	5
(4) 難治性乳房炎に対す る発症制御法の開発	動物衛生研究部門	寒地酪農衛生ユニッ ト	△渡部 淳 林 智人 秦 英司 菊 佳男 (～ 2021. 3) 長澤裕哉 河合一洋 小山芳一	30 10 10 10 10 10 5 5 5
	麻布大学獣医学部 北海学園大学工学 部	衛生学第一研究室 生命工学科	麻生 久 野地智法	5 5
	酪農学園大学獣医 学群 酪農学園大学獣医 学群	獣医学類獣医衛生学 ユニット 獣医学類獣医生化学 ユニット	樋口豪紀 岩野英知	5 5
2. ウイルス感染症に対する 疾病防除技術の開発	動物衛生研究部門	発病制御ユニット	○大橋誠一	25
(1) ウイルス様粒子作製 技術を応用したトリアデノ ウイルスワクチンの開発	動物衛生研究部門	疾病防除基板ユニッ ト	△真瀬昌司 井関 博 鈴木孝子 (～	30 20 20

(2) 豚流行性下痢ウイルス増殖性関連領域の特定による低病原性化技術の開発 3. 牛伝染性リンパ腫の発症・伝播リスク牛の摘発技術の開発 (1) BLV感染率の高い農場での効率的な摘発技術確立に資する新規バイオマーカーの開発 (2) 牛伝染性リンパ腫におけるPL牛やEBL牛の摘発技術開発 (3) 乳中に現れるBLV伝播リスクバイオマーカーの同定	動物衛生研究部門	発病制御ユニット	2018. 3) 大田方人 (～ 2019. 3) 渡邊聡子 (2018. 4 ～) △大橋誠一 須田遊人	20 20 前出 10
	動物衛生研究部門	牛ウイルスユニット	○前任者畠間真一 (～2021. 3) 後任者 (2021. 4～) 安藤清彦	20
	動物衛生研究部門	牛ウイルスユニット	△畠間真一 (～2021. 3) △安藤清彦 (2021. 4～) 松浦裕一 西森朝美	前出 30 20 30
	北海道大学大学院	獣医学研究科	△今内 寛	前出
	岐阜大学	応用生物科学部	△猪島康雄	10

(注1) 研究総括者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

(7) 各年度の研究費

平成29年度	79,000,000円
平成30年度	61,126,078円
令和1年度	51,850,000円
令和2年度	43,590,000円
令和3年度	36,000,000円

3 研究成果の概要

(1) 主な成果

1) 成果の内容

サルモネラ症、豚浮腫病、牛難治性乳房炎、トリアデノウイルス感染症、豚流行性下痢のワクチン候補抗原および候補株を作出し、ヨーネ病に関して排菌抑制効果の高い分子薬候補を見出した。牛伝染性リンパ腫の発症高リスク牛の摘発マーカー候補および乳汁を用いたウイルス伝播高リスク牛の摘発マーカー候補を見出した。

2) 成果の活用

有望なワクチン候補抗原・候補株および診断系については、検証を重ねるとともにワクチン開発に向けて民間企業と連携して実用化を目指す。

(2) 各研究課題の成果

1) 小課題名：細菌感染症に対する疾病防除技術の開発

(ア) 研究目標

家畜常在疾病の発生予防や症状軽減、病原体まん延防止のため、既存処方に比べ、感染防除、排菌抑制または発病抑制効果の高いサルモネラ症、豚細菌病、牛難治性乳房炎及びヨーネ病に対するワクチンないし分子薬のシーズの開発研究を実施する。

(イ) 研究内容

本課題では、家畜のサルモネラ症、豚疾病、牛環境性レンサ球菌性乳房炎についての新規ワクチンを開発するため、感染防御抗原の同定と作製、宿主応答の解析および宿主動物を用いた防御試験を実施した。また、ヨーネ病発症牛における免疫回避機構の解析と免疫制御因子に対する抗体を用いてヨーネ菌感染牛における排菌抑制効果を検証した。

(ウ) 研究結果

サルモネラ症の課題では、防御に関与する分子としてマクロファージファゴソーム内様環境培地のみで産生されるサルモネラタンパク質SseJの組換えタンパク質を作製し、当該タンパク質はサルモネラ属菌の死菌と組み合わせることでサルモネラ経口感染に対して感染防御を示すことをマウス感染モデルで明らかにし、さらに鶏および豚を用いたサルモネラ経口感染に対して感染防御を示すことを実証した。豚丹毒菌弱毒株をプラットフォームとして、豚浮腫病の病原因子であるStx2eの宿主細胞結合因子であるBサブユニット、豚流行性下痢ウイルスのSタンパク質および豚サーコウイルスのカプシドタンパク質の抗原遺伝子を導入しそれら抗原の発現を確認した。評価試験は豚浮腫病の病原因子を発現する豚丹毒菌弱毒株について進め、マウスでの中和抗体誘導能を確認し、さらに豚を用いた検証試験において病態の改善効果を実証した。牛環境性レンサ球菌性乳房炎の課題では、ワクチン抗原候補として選定したウベリスレンサ球菌株死菌の免疫血清は多様なウベリスレンサ球菌株に広く反応することを示し、さらに臨床型乳房炎の病態モデルを作出して、本ワクチン候補株がウベリスレンサ球菌の乳房内感染に対し防御効果ないし乳房炎の病態制御効果があることを実証した。ヨーネ病の課題では、試験管内で抗ウシPD-L1キメラ抗体およびメロキシカムの免疫制御因子阻害剤の併用による免疫活性増強効果を確認し、またプロスタグランジンE₂等の生理活性物質によるT細胞活性低下がヨーネ病の病態進行に関与することを明らかにした。ヨーネ病排菌牛を用いた抗ウシPD-L1キメラ抗体投与試験において、IFN- γ およびTNF- α の遺伝子発現とタンパク質産生が促進したことから細胞性免疫応答が賦活したと推測され、さらに排菌停止・低下と抵抗性型病変の確認から、抗体投与による排菌抑制効果を実証した。また、感染マーカー候補遺伝子*GBP6*発現は、感染早期かつヨーネ菌抗原特異的に認められ、また当該タンパク質は感染早期にIFN- γ 依存的に誘導されることから、感染マーカーとしての有用性を示した。

(エ) 研究成果の活用における留意点

サルモネラ症分泌タンパク質およびウベリスレンサ球菌性乳房炎ワクチン候補株については特許を申請して知財化しており、今後、検証を重ねるとともにワクチン開発に向けて民間企業と連携して実用化を目指す。ヨーネ病の課題では、抗ウシPD-L1キメラ抗体や感染早期マーカーとしての*GBP6*遺伝子の有用性が示されたが、防御手法や早期診断法への応用に向けては、更なる検証が必要である。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

豚丹毒菌を利用したベクターワクチンおよびウベルスレンサ球菌ワクチン候補抗原では、プロジェクト期間内では実施数が少ないため、実用化にあたっては宿主試験の最適化や抗原・アジュバントの組合せ等、更なる検証が必要である。

2) 小課題名：ウイルス感染症に対する疾病防除技術の開発

(ア) 研究目標

家畜常在疾病の発生予防や症状軽減、病原体まん延防止のため、既存処方に比べ、感染防除、排菌抑制または発病抑制効果の高いトリアデノウイルス症及び豚流行性下痢ワクチンシーズの開発研究を実施する。

(イ) 研究内容

本課題では、トリアデノウイルス感染症、豚流行性下痢についての新規ワクチンを開発するため、感染防御抗原の同定と作製ならびに候補株の作製、宿主動物を用いた防御試験を実施した。

(ウ) 研究結果

トリアデノウイルス感染症の課題では、ウイルスのゲノム配列の決定と昆虫細胞による4種類の主要抗原タンパク質を発現・精製してファイバー1タンパク質をワクチン候補として選定し、鶏評価試験により中和抗体の誘導とウイルス増殖抑制を実証した。さらに、血清型1、2、4、8a由来の組換えファイバーを混合して抗原とすることで、鶏血清中の抗トリアデノウイルス抗体を特異的に検出するELISAを構築し、また、ヘキソンの遺伝子配列を基に各血清型特異的なプライマーを設計することにより国内において病鶏からの分離率が高いトリアデノウイルスの血清型を識別するPCR法を作出した。豚流行性下痢の課題では、Vero細胞で90代連続継代し、トリプシン非添加でも増殖する株を作出し、本株はVero細胞で明瞭な細胞変性効果を示すことと培養上清中の感染価は 10^7 PFU/mLであることを示した。本株と親株との塩基配列を比較すると、スパイク遺伝子の主要な中和抗原部位と考えられる領域に変異は認められなかったが、ORF3遺伝子には13塩基の挿入が見られフレームシフトが起きていた。さらに、豚試験により本株の高い中和抗体の誘導と発症抑制を実証した。

(エ) 研究成果の活用における留意点

実用化にあたっては宿主試験の最適化や抗原・アジュバントの組合せ等、更なる検証が必要である。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

豚流行性下痢の課題では、プロジェクト期間内では実施数が少ないため、実用化にあたっては作出したウイルスの様々な日齢や用途の豚に対する安全性や病性の復帰に関する確認が必要である。

3) 小課題名：牛伝染性リンパ腫（EBL）の発症・伝播リスク牛の摘発技術の開発

(ア) 研究目標

牛伝染性リンパ腫発症に関連するウイルス遺伝子、宿主遺伝子・タンパク質、免疫担当細胞を解析し牛伝染性リンパ腫の発症・伝播リスク牛の摘発技術を開発する。

(イ) 研究内容

実施課題1では、感染個体におけるプロウイルス量の多寡と関連するウイルス遺伝

子変異を探索した。また、胎盤感染を起こす分子機構を解明するため、ウイルス膜タンパク質と牛子宮内膜細胞の融合親和性の解析および感染B細胞を誘引する宿主タンパク質を解析した。さらに、トランスクリプトーム解析により、発症牛で特異的に発現変動する遺伝子を探索するとともに、リアルタイムPCRでの再現性評価や感染非発症牛におけるプロウイルス量との相関性解析を行った。実施課題2では、発症牛由来の腫瘍細胞におけるB細胞クローナリティおよびプロウイルス挿入部位を解析した。またウイルス感染牛で特異的に発現が増減しているプロスタグランジンE₂などを中心としたバイオマーカー（核酸、タンパク等）を同定した。実施課題3では、乳汁を用いたウイルス伝播高リスク牛の摘発技術開発のため、生乳エクソソームを効率よく簡便に分離する方法を検討し、酪農場においてウイルス伝播高リスク牛から採取した生乳エクソソームに現れる核酸およびタンパク質の種類と量を網羅的に解析してバイオマーカー候補を同定して検出系を確立した。

（ウ）研究結果

実施課題1では、ウイルスゲノム解析によりAS1遺伝子領域に特定の一塩基変異を有するウイルスでは、その感染個体のプロウイルス量が低い傾向にあることを明らかにした。また、感染B細胞株を用いた解析からウイルスEnvタンパク質が子宮内膜細胞に対して融合活性を示すこと、感染細胞が子宮内膜細胞から分泌されるケモカインCCL2およびCXCL10に誘引されることを証明した。さらに、トランスクリプトーム解析およびリアルタイムPCRを用いた検証の結果、発症牛において有意に発現上昇している12遺伝子を同定し、特にRUNX1T1、EPB4L1、HLTFおよびMK167の4遺伝子が発症群と対照群で発現量に明瞭な差を示し、かつ非発症牛においてもmRNA発現量がプロウイルス量やリンパ球数と正の相関を示すことを明らかにした。実施課題2では、牛伝染性リンパ腫の病態が進むに伴いPD-1やCTLA-4などの免疫チェックポイント因子の発現が亢進し、これらはプロスタグランジンE₂によって誘導されることやプロスタグランジンE₂による細胞性免疫の破綻により病態が重症化することを明らかとした。また、若齢発症牛を含む一部の発症牛において、プロウイルスが宿主癌遺伝子（ドライバ遺伝子）の近傍に挿入されていることを確認し、牛伝染性リンパ腫においてもPromoter insertionによる宿主染色体中の原癌遺伝子の*cis* 活性化による発症を示唆した。実施課題3では、酸を用いて乳エクソソームを効率よく分離・精製する方法の確立に成功し、従来は7時間程度要していた前処理を1時間以内に短縮した。また、ウイルス伝播高リスクを反映する乳エクソソーム内の核酸およびタンパク質バイオマーカー候補を複数種同定し、核酸およびタンパク質バイオマーカーを検出する検出系として、それぞれリアルタイムPCR法、ウェスタンブロット法を確立した。

（エ）研究成果の活用における留意点

免疫制御因子やプロスタグランジンE₂は、牛伝染性リンパ腫ウイルスでの特異的な免疫反応ではないことから、バイオマーカーとしての精度についてさらなる検証が必要である。

（オ）研究目標の達成に当たっての問題点

見出した発症やウイルス高伝播に関わる候補遺伝子やタンパク質については、感染牛の追跡調査や大規模実証試験など更なる検証が必要である。

4 研究成果の発表

別添のとおり。

5 研究期間中に生じた問題、今後の課題等

有望なワクチン候補抗原・候補株および診断系については、検証を重ねるとともにワクチン開発に向けて民間企業と連携して実用化を目指す。牛伝染性リンパ腫の課題では、感染牛の追跡調査や大規模実証試験など更なる検証が必要である。

研究成果一覧

(別添)

(1)学術論文

区分:①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	タイトル	著者	掲載誌	発行年	発行月	巻(号)	掲載ページ
1	②	感染ウイルス定量解析によるリスク評価を基盤とする牛白血病対策	佐治木大和、今内 覚、中島隆二	畜産の研究	2017	9	71(9)	729-739
2	②	牛の免疫応答を利用した難治性疾病の新規制御法開発	今内 覚	家畜衛生学雑誌	2017	11	43(3)	101-103
3	②	牛白血病の最新知見とウイルス量を基盤とした対策について	今内 覚	獣医公衆衛生研究	2018	3	20	12-17
4	②	獣医療における抗体医薬の現状	今内 覚、村田史郎、大橋和彦	家畜診療	2018	2018	658	233-240
5	①	牛白血病の最新知見とウイルス量を基盤とした対策について	Nishimori A, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Goto S, Ikebuchi R, Nakahara A, Chiba Y, Ikeda M, Murata S, Ohashi K.	Clinical and Vaccine Immunology	2017	9	4(9)	e00067-17.
6	②	獣医療における抗体医薬の現状	今内 覚、村田史郎、大橋和彦	家畜診療 (招待論文)	2018	4	65(4)	233-240
7	②	牛難治性疾病に対するバイオ医薬の創出	今内 覚	JATAFFジャーナル (招待論文)	2018	5	6(5)	29-33
8	②	動物難治性疾病に対する創薬研究	今内 覚、岡川朋弘、前川直也、中島千絵、鈴木定彦、山本啓一、戸田幹洋、村田史郎、大橋和彦	MPアグロジャーナル (招待論文)	2018	10	35(10)	22-25
9	②	免疫学的解析を基盤とした動物用創薬研究	今内 覚、岡川朋弘、前川直也、中島千絵、鈴木定彦、山本啓一、戸田幹洋、村田史郎、大橋和彦	臨床獣医 (招待論文)	2019	3	37(3)	37-41
10	②	牛白血病の病態発生機序解析を基盤とする新制御法の試み (招待論文)	今内 覚、岡川朋弘、前川直也、村田史郎、大橋和彦	畜産技術	2020	9	784	450-462
11	②	牛伝染性リンパ腫の病態発生機序解析を基盤とする新制御法の試み	今内 覚、岡川朋弘、前川直也、村田史郎、大橋和彦	家畜衛生学雑誌	2021	12	47(3)	147-150
12	②	臨床免疫を基盤とする産学協同応用研究の推進	今内 覚	臨床獣医	2021	6	6	82-84
13	①	Prostaglandin E2 induction suppresses the Th1 immune responses in cattle with Johne's disease	Sajiki Y, Konnai S, Okagawa T, Nishimori A, Maekawa N, Goto S, Ikebuchi R, Nagata R, Kawaji S, Kagawa Y, Yamada S, Kato Y, Nakajima C, Suzuki Y, Murata S, Mori Y, Ohashi K.	Infect Ummun.	2018	23	86(5)	e00910-17
14	①	Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load.	Sajiki Y, Konnai S, Nishimori A, Okagawa T, Maekawa N, Goto S, Nagano M, Kohara J, Kitano N, Takahashi T, Tajima M, Mekata H, Horii Y, Murata S, Ohashi K.	J Vet Med Sci.	2017	12	79(12)	2036-2039.

15	①	Cooperation of PD-1 and LAG-3 in the exhaustion of CD4+ and CD8+ T cells during bovine leukemia virus infection	Okagawa T, Konnai S, Nishimori A, Maekawa N, Goto S, Ikebuchi R, Kohara J, Suzuki Y, Yamada S, Kato Y, Murata S, Ohashi K.	Veterinary Research	2018	6	49(1)	50
16	①	Efficient method for isolation of exosomes from raw bovine milk	Yamauchi M, Shimizu K, Rahman M, Ishikawa H, Takase H, Ugawa S, Okada A, Inoshima Y	Drug Development and Industrial Pharmacy	2019	2	45(2)	359–364
17	①	The chemokines CCL2 and CXCL10 produced by bovine endometrial epithelial cells	Andoh K, Nishimori A, Hayashi KG, Sakumoto R, Hatama S.	Veterinary Microbiology	2020	–	–	108598
18	①	Vector transmission of bovine leukemia virus during summer season in Northern Hokkaido	Inagaki H, Konnai S, Kaburagi H, Murota H, Takabatake N, Watari K, Okagawa T, Maekawa N, Murata S, Ohashi K.	Japanese Journal of Veterinary Research	2019	7	67(3)	235–239
19	①	Prostaglandin E2 induced immune exhaustion and enhancement of anti-viral effects by anti-PD-L1 antibody combined with COX-2 inhibitor in bovine leukemia virus infection	Sajiki Y, Konnai S, Okagawa T, Nishimori A, Maekawa N, Goto S, Watari K, Minato E, Kobayashi A, Kohara J, Yamada S, Kaneko MK, Kato Y, Takahashi H, Terasaki N, Takeda A, Yamamoto K, Toda M, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K.	J Immunol	2019	9	203(5)	1313–1324
20	①	Immune inhibitory function of bovine CTLA-4 and the effects of its blockade in IFN- γ production.	Kei Watari, Satoru Konnai, Naoya Maekawa, Tomohiro Okagawa, Yasuhiko Suzuki, Shiro Murata, Kazuhiko Ohashi	BMC Vet Res.	2019	10	5(1)	380
21	①	Efficient method for isolation of exosomes from raw bovine milk	Yamauchi M, Shimizu K, Rahman M, Ishikawa H, Takase H, Ugawa S, Okada A, Inoshima Y	Drug Development and Industrial Pharmacy	2019	3	45(3)	359–364
22	①	Acidification effects on isolation of extracellular vesicles from bovine milk	Rahman MM, Shimizu K, Yamauchi M, Takase H, Ugawa S, Okada A, Inoshima Y	PLoS ONE	2019	9	14(9)	e0222613
23	①	Chemokines CCL2 and CXCL10 produced by bovine endometrial epithelial cells induce migration of bovine B lymphocytes, contributing to transuterine transmission of BLV infection.	Kiyohiko Andoh, Asami Nishimori, Ryosuke Sakumoto, Ken-Go Hayashi, Shinichi Hatama	Veterinary Microbiology	2020	3	242	108598
24	①	Development of an in situ hybridization assay using an AS1 probe for detection of bovine leukemia virus in BLV-induced lymphoma tissues.	Kiyohiko Andoh, Kumiko Kimura, Asami Nishimori, Shinichi Hatama	Arch Virol	2020	12	165(12)	2869–2876
25	①	A TLR7 agonist activates bovine Th1 response and exerts antiviral activity against bovine leukemia virus.	Sajiki Y, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Nakamura H, Kato Y, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K.	Dev Comp Immunol	2021	1	114	103847
26	①	Enhanced immunotherapeutic efficacy of anti-PD-L1 antibody in combination with an EP4 antagonist	Sajiki Y, Konnai S, Cai Z, Takada K, Okagawa T, Maekawa N, Fujisawa S, Kato Y, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K	ImmunoHorizons	2020	12	4(12)	837 – 850
27	①	mRNA profile in milk extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cattle	Ishikawa H, Rahman MM, Yamauchi M, Takashima S, Wakihara Y, Kamatari YO, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y	Viruses	2020	6	12(6)	669
28	①	Data on proteomic analysis of milk extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cattle	Rahman MM, Badr Y, Kamatari YO, Kitamura Y, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y	Data in Brief	2020	12	33	106510

29	①	The enhancement of Th1 immune response by anti-PD-L1 antibody in cattle infected with <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	Sajiki Y, Konnai S, Nagata R, Kawaji S, Nakamura H, Fujisawa S, Okagawa T, Maekawa N, Kato Y, Suzuki Y, Murata S, Mori Y, Ohashi K	J Vet Med Sci.	2021	2	83(2)	162-166
30	①	Identification of specific serotypes of fowl adenoviruses isolated from diseased chickens by	Mase M, Hiramatsu K, Nishijima N, Iseki H, Watanabe S.	J Vet Med Sci.	2021	1	83(1)	130-133
31	①	Complete Genome Sequence of a Fowl Adenovirus D Strain Isolated from Chickens with Inclusion Body Hepatitis in Japan.	Mase M, Iseki H, Watanabe S.	Microbiol Resour Announc.	2021	11	10(46)	e0094021
32	①	Novel single nucleotide polymorphisms in the bovine leukemia virus genome are associated with proviral load and affect the expression profile of viral non-coding transcripts.	Andoh K, Akagami M, Nishimori A, Matsuura Y, Kumagai A, Hatama S.	Vet Microbiol.	2021	8	261	109200
33	①	Enhancement of interleukin-2 production by combination of anti-PD-L1 and CTLA-4 chimeric antibodies in cattle □	Watari K, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Sajiki Y, Kato Y, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K □	J Vet Med Sci.	2021	1	84(1)	6-15
34	①	Prostaglandin-related immune suppression in cattle □	Sajiki Y, Konnai S, Ikenaka Y, Okagawa T, Maekawa N, Logullo C, da Silva Vaz Jr I,	Vet Immunol Immunopathol. □	2021	6	236	110238
35	①	Proteomic profiling of milk small extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cattle	Rahman, M M, Takashima, S, Kamatari, Y O, Badr Y, Kitamura Y, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y.	Sci Rep.	2021	1	11(1)	2951
36	①	Comprehensive proteomic analysis revealed a large number of newly identified proteins in the small extracellular vesicles of milk from late-stage lactating cows.	Rahman M M, Takashima S, Kamatari Y O, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y.	Animals	2021	9	11(9)	2506
37	①	Putative internal control genes in bovine milk small extracellular vesicles suitable for normalization in quantitative real time-polymerase chain reaction	Rahman, M.M., Takashima, S., Kamatari, Y.O., Badr,Y., Shimizu, K., Okada, A., Inoshima, Y.	Membranes	2021	12	11(12)	933
38	①	The gut microbiota induces Peyer's-patch-dependent secretion of maternal IgA into milk	Usami K, Niimi K, Matsuo A, Suyama Y, Sakai Y, Sato S, Fujihashi K, Kiyono H, Uchino S, Furukawa M, Islam J, Ito K, Moriya T, Kusumoto Y, Tomura M, Hovey RC, Sugawara J, Yoneyama H, Kitazawa H, Watanabe K, Aso H, Nochi T.	Cell Reports	2021	9	36	109655
39	①	Sequence type and primary structure of the <i>vru</i> gene upstream region of <i>Streptococcus uberis</i> isolated from bovine clinical mastitis in Japan	Watanabe A., et al.	Japanese Journal of Veterinary Research				
40	①	Genomic characterization of a fowl adenovirus serotype 4 strain isolated from a chicken with hydropericardium syndrome in Japan.	Mase M, Tanaka Y, Iseki H, Watanabe S.	Arch. Virol.				

(2)学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	学会等名	発行年	発行月
------	------	------	------	-----	-----

1	動物における免疫チェックポイント標的抗体による治療戦略 (招待講演)	今内 覚	化学及血清療法研究所 三風会(招待講演)、化学及血清療法研究所 (熊本県熊本市)	2017	6
2	日本国内における牛白血病発症牛の分類と表現型解析	西森朝美、今内 覚 他9名	日本ウイルス学会北海道支部会第51回夏季シンポジウム、グリーンピア大沼 (北海道茅部郡森町)	2017	7
3	牛白血病ウイルス(BLV)感染症におけるプロスタグランジンE2 (PGE2)の動態および機能解析	佐治木大和、今内 覚 他4名	日本ウイルス学会北海道支部会第51回夏季シンポジウム、グリーンピア大沼 (北海道茅部郡森町)	2017	7
4	牛白血病の最新知見 (招待講演)	今内 覚	第108回上川家畜衛生研究会(招待講演)、旭川農業会館 (北海道旭川市)	2017	7
5	牛白血病ウイルス(BLV)感染ハイリスク牛における初めての子宮内感染直接証明	佐治木大和、今内覚、西森朝美、岡川朋弘、永野昌志、小原潤子、村田史	平成29年度北海道地区ならびに第68回北海道獣医師大会、酪農学園大学(北海道江別市)	2017	9
6	Role of Inhibitory Molecules in Bovine Chronic Infectious Diseases and as Target for Therapy (招待講演)	Satoru KONNAI	宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター(CADIC)特別セミナー、宮崎大学(宮崎県宮崎市)	2017	9
7	Role of Inhibitory Molecules in Bovine Chronic Infectious Diseases and as Target for Therapy (招待講演)	Satoru KONNAI	Hokkaido University & Colorado State University Kick-off Symposium 2017、北海道大学大学院獣医学研究院(北海道札幌市)	2017	9
8	BLV感染症をモデルとした抗ウシPD-L1キメラ抗体の臨床応用試験	西森朝美、今内 覚 他	第160回日本獣医学会学術集会、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)	2017	9
9	牛白血病ウイルス(BLV)感染症におけるプロスタグランジンE2 (PGE2)の機能および動態解析	佐治木大和、今内 覚 他	第160回日本獣医学会学術集会、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)	2017	9
10	In vitro and in vivo antiviral activity of an anti-programmed death-ligand 1 rat-bovine chimeric antibody against bovine	Asami MISHIMORI, Satoru KONNAI 他	The 5th Sapporo Summer Seminar for One Health、北海道大学大学院獣医学研究院(北海道札幌市)	2017	9
11	Epidemiological and immunological study for intractable infectious diseases in Mongolian livestock (招待講演)	Satoru KONNAI	JICA Project: Infectious Diseases Seminar 2017 in Mongolia、CHINGGIS KHAAN HOTEL(Ulaanbaatar、	2017	10
12	増加している牛白血病 - 北海道での現状と対策について - (招待講演)	今内 覚	第22回北海道肉牛研究会大会、北見農業会館(北海道北見市)	2017	10
13	動物用バイオ医薬品の開発 (招待講演)	今内 覚	東北大学大学院医学系研究科抗体創薬研究分野 第二回抗体創薬研究セミナー、東北大学(宮城県仙台市)	2017	11
14	牛難治性疾患に対する多機能型バイオ医薬(抗体医薬)の創出と発展的応用 (招待講演)	今内 覚	農林水産省・食品産業科学技術研究推進事業「知」の集積と活用の中場ポスターセッション、大田区産業プラザPiO (東京都大田区)	2017	11
15	Immune exhaustion during chronic diseases in animals (招待講演)	Satoru KONNAI	The 20th Joint Symposium Between Seoul National University and Hokkaido University、Seoul National University(Seoul, Korea)	2017	11
16	牛の免疫応答を利用した難治性疾患の新規制御法開発 ~免疫チェックポイントを標的とした動物用抗体創薬~ (招待講演)	今内 覚	The 20th Joint Symposium Between Seoul National University and Hokkaido University、Seoul National University(Seoul, Korea)	2017	12
17	地方病牛白血病対策について (招待講演)	今内 覚	岩手県地方病性牛白血病防疫推進講習会、岩手県産業文化センター(岩手県滝沢市)	2018	1
18	牛白血病の最新事情 (招待講演)	今内 覚	十勝獣医師会講習会、北海道帯広食肉衛生検査所(北海道帯広市)	2018	3
19	ウシ生乳からのエクソソーム分離方法の改良	山内まり花、高瀬弘嗣、鶴川眞也、岡田彩加、猪島康雄	第4回日本細胞外小胞学会学術集会	2017	8
20	ウシ生乳からのエクソソームの分離の簡便化とBLV感染生乳エクソソーム中のmRNA解析	山内まり花、高瀬弘嗣、鶴川眞也、岡田彩加、猪島康雄	第160回日本獣医学会学術集会	2017	9

21	Effect of intramammary infection on serum albumin, IgG1 and IgG2 levels in mammary secretions from dairy cows at 9-12 days before calving	Watanabe Aら	The 2018 International Bovine Mastitis Congress (NMC Milano 2018)	2018	6
22	牛白血病ウイルス胎盤感染における子宮内膜細胞の役割	安藤清彦、西森朝美、木村久美子、林 憲悟、作本亮介、畠間真一	Summer Retrovirus Conference 2018	2018	7
23	牛子宮内膜細胞への牛白血病ウイルス感染機構の解析	安藤清彦、西森朝美、木村久美子、林 憲悟、作本亮介、畠間真一	第161回日本獣医学会学術集会	2018	9
24	Role of bovine endometrial epithelial cells in transplacental infection of bovine leukemia virus.	Kiyohiko Andoh, Asami Nishimori, Kumiko Kimura, Ken-Go Hayashi, Ryosuke Sakumoto, Shinichi Hatama	第66回日本ウイルス学会	2018	10
25	Bovine endometrial epithelial cell plays an important role in the transplacental infection of the bovine leukemia virus	Kiyohiko Andoh, Asami Nishimori, Kumiko Kimura, Ken-Go Hayashi, Ryosuke Sakumoto, Shinichi Hatama	The 6th Thailand-Japan Joint Conference on Animal Health 2018	2018	11
26	牛白血病の最新知見 現状と対策	今内 覚	国立大学法人岐阜大学応用生物科学部附属家畜衛生地域連携教育研究センター家畜衛生講演会(岐阜大学・岐阜)	2018	6
27	動物難治性疾患に対する創薬研究	今内 覚	北里大学獣医学部特定講義(北里大学獣医学部・青森県十和田市)	2018	6
28	牛難治性疾患における免疫疲弊化機序の解析と制御法への応用	今内 覚	第74回九州・山口病性鑑定協議会(サンブラザ天文館・鹿児島県鹿児島市) 招待講演	2018	6
29	免疫チェックポイントを標的とした動物用抗体医薬の開発	今内 覚	第2回ヒトと伴侶動物の比較医学研究会 ヒト医療と獣医療の先端技術を駆使した次世代のがん治療～がん撲滅への新たな挑戦～(東京農工大学・東京都府中市)	2018	6
30	Antiviral activity of a COX-2 inhibitor against bovine leukemia virus infection	佐治木大和、今内 覚	日本ウイルス学会北海道支部会第52回夏季シンポジウム(上砂川岳温泉パンケの湯・北海道砂川市)	2018	7
31	牛白血病の最新知見 ～臨床データからの更新知見～	今内 覚	平成30年度みなみ北海道農業共済組合第1回診療等体験発表会 特別講演(日胆農業会館・北海道苫小牧市)	2018	7
32	in vitro and clinical study on antiviral activity of an anti-PD-L1 rat-bovine chimeric antibody against bovine leukemia virus infection	Naoya Maekawa, Asami, Satoru Konnai	The 30th World Buiatrics Congress (Sapporo Convention Center・Sapporo・Hokkaido)	2018	8
33	Overcoming T-cell exhaustion in chronic infections of cattle: a pilot clinical study of anti-PD-1 immunotherapy in bovine leukemia virus infection	Tomohiro Okagawa, Satoru Konnai	The 30th World Buiatrics Congress (Sapporo Convention Center・Sapporo・Hokkaido)	2018	8
34	地方病性牛白血病若齢発症牛におけるプロウイルス挿入部位の網羅的解析	岡川朋弘、今内 覚	第161回日本獣医学会学術集会(つくば国際会議場・茨城県つくば市)	2018	9
35	動物難治性疾患に対する創薬研究～免疫学的解析を基盤とした新規制御法の開発～	今内 覚	第161回日本獣医学会学術集会(つくば国際会議場・茨城県つくば市)	2018	9
36	地方病性牛白血病の簡易鑑別診断基準の確立と若齢発症牛の実態調査	田中晶菜、今内 覚	第161回日本獣医学会学術集会(つくば国際会議場・茨城県つくば市)	2018	9
37	ウシCytotoxic T-lymphocyte antigen-4(CTLA-4)の機能解析および慢性感染症における発現解析	渡 慧、今内 覚	第161回日本獣医学会学術集会(つくば国際会議場・茨城県つくば市)	2018	9
38	Overcoming T-cell exhaustion in chronic infections of cattle: a pilot clinical study of anti-PD-1 immunotherapy in bovine leukemia virus infection	Kei Watari, Satoru Konnai	The 6th Sapporo Summer Seminar for One Health(北海道大学大学院獣医学研究院・北海道札幌市)	2018	9
39	牛白血病における新規病態進行評価マーカーの検索	渡 慧、今内 覚	平成30年度北海道地区学会ならびに第69回北海道獣医師会大会(北海道大学・北海道札幌市)	2018	9
40	牛白血病の最新知見、現状と対策	今内 覚	兵庫県畜産協会平成30年度食の安全・消費者の信頼確保対策事業平成30年度牛白血病講習会(兵庫県立農林水産技術センター北部農業技術センター・兵庫県朝来市)	2018	10

41	動物難治性疾病に対する創薬研究	今内 覚	大阪市立大学特別講演(大阪市立大学・大阪府大阪市)	2018	12
42	牛白血病臨床検査診断結果に基づく実践的対策	今内 覚	平成30年度小平町和牛生産改良組合牛白血病研修会	2019	1
43	動物の難病に対する創薬研究(予定)	今内 覚	北海道立小樽潮陵高等学校特別授業(小樽潮陵高等学校・北海道小樽市)	2019	1
44	Immune exhaustion during chronic diseases in animals(予定)	Satoru KONNAI	リオグランデスル連邦大学特別講演(リオグランデスル連邦大学・ポルト・アレグレ・ブラジル)	2019	2
45	動物難治性疾病に対する創薬研究(免疫チェックポイントを標的とした免疫療法の試み)(予定)	今内 覚	第15回 日本獣医内科学アカデミー学術大会(パシフィコ横浜・神奈川県横浜市)	2019	2
46	動物難治性疾病に対する創薬研究(予定)	今内 覚	大動物臨床研究会シンポジウム(東京大学・東京都文京区)	2019	3
47	牛白血病の最新知見、現状と対策(予定)	今内 覚	大分県畜産協会特別講演	2019	3
48	牛白血病の最新知見、現状と対策(予定)	今内 覚	動物医学食品安全教育センターシンポジウム(東北大学・宮城県仙台市)	2019	3
49	牛白血病の最新知見、現状と対策(予定)	Hinata Ishikawa, Shigeo Takashima, Yoshiko Wakihara, Ayaka Okada, Yasuo	第5回日本細胞外小胞学会	2018	8
50	ウシ生乳エクソソーム中に現れる地方病性牛白血病の病態進行に関するバイオマーカーの探索	石川日向、高島茂雄、脇原祥子、岡田彩加、猪島康雄	平成30年度獣医学術中部地区学会	2018	9
51	牛白血病ウイルス感染牛における生乳エクソソーム中mRNAの網羅的解析による病態進行マーカーの探索	石川日向、高島茂雄、脇原祥子、岡田彩加、猪島康雄	第161回日本獣医学会	2018	9
52	「Protection against Salmonella oral infection by T3SS virulent protein and heat-killed bacteria	Swarmistha Aribam, Marta Elsheimer-Matulova, 小川洋介、白岩和真、西川明芳、下地善弘、江口正浩	第162回日本獣医学会学術集会	2019	9
53	ヨーネ病の特徴病変と病態形成機序	田中省吾	第162回日本獣医学会学術集会	2019	8
54	ヨーネ病の病態と免疫応答	永田礼子	第162回日本獣医学会学術集会	2019	8
55	牛白血病ウイルス(BLV)感染牛のプロウイルス量に寄与するウイルスゲノムSNPsの解析	Kiyohiko Andoh, Asami Nishimori, Masataka Akagami, Shinichi Hatama	レトロウイルス研究会(SRC2019)	2019	6
56	牛白血病ウイルスantisense RNAをターゲットとしたin situ hybridization法の開発	安藤 清彦、木村 久美子、西森 朝美、畠間 真一	第162回日本獣医学会学術集会	2019	9
57	Detection of novel viral SNPs correlated with proviral load in BLV infected cattle. 牛白血病ウイルス(BLV)感染牛のプロウ	Kiyohiko Andoh, Asami Nishimori, Masataka Akagami, Shinichi Hatama	第67回日本ウイルス学会学術集会	2019	10
58	牛白血病ウイルス(BLV)の子宮内感染機構の解析	安藤 清彦	令和元年度 馬防疫検討会「馬感染症研究会」研究部会	2019	10
59	免疫チェックポイントを標的とした免疫療法の試み(招待講演)	今内 覚	麻布大学獣医学部臨床特別セミナー(麻布大学・神奈川県相模原市)	2019	4
60	獣医学領域における感染症の制御(招待講演)	今内 覚	微生物化学研究所特別講演(微生物化学研究所・京都府京都市)	2019	5
61	牛白血病臨床検査診断結果に基づく実践的対策(招待講演)	今内 覚	上川青年獣医師会特別講演(JA上川ビル・北海道旭川市)	2019	5
62	Establishment of anti-bovine PD-1 chimeric antibody and a pilot clinical study	Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Murata S, Ohashi K.	International Veterinary Immunology Symposium 2019 (Renaissance Seattle Hotel・Seattle・USA)	2019	8
63	Contribution of prostaglandin E2 to disease progression and enhancement of antiviral effects by anti-PD-L1 antibody combined with COX-2 inhibitor in bovine leukemia virus infection	Sajiki Y, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Murata S, Ohashi K.	International Veterinary Immunology Symposium 2019 (Renaissance Seattle Hotel・Seattle・USA)	2019	8

64	Functional analysis of bovine CTLA-4 in bovine leukemia virus infection	Watari K, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Murata S, Ohashi K.	International Veterinary Immunology Symposium 2019 (Renaissance Seattle Hotel・Seattle・USA)	2019	8
65	Effects of bovine tumor necrosis factor alpha decoy receptors on cell death and inflammatory cytokine kinetics: potential for bovine inflammation therapy	Fujisawa S, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Murata S, Ohashi K.	International Veterinary Immunology Symposium 2019 (Renaissance Seattle Hotel・Seattle・USA)	2019	8
66	BLV感染症に対するCOX-2阻害剤と抗PD-L1抗体併用法の抗ウイルス効果の検討	佐治木大和、今内 寛、岡川朋弘、前川直也、後藤伸也、小原潤子、山田慎二、加藤幸成、鈴木定彦、村田史郎、大橋和彦	第162回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場・茨城県つくば市）	2019	9
67	動物難治性疾患に対する創薬研究(招待講演)	今内 寛	WISE特別セミナー2019（北海道大学・北海道札幌市）	2019	10
68	動物用抗体医薬品の開発および臨床研究(招待講演)	今内 寛	第162回日本動物用医薬品協会第51回学術講習会特別講演（中央大学・東京都千代田区）	2019	10
69	動物の難病(がん・感染症)に対する創薬研究(新薬の開発)(招待講演)	今内 寛	北海道札幌南高等学校特別授業(札幌南高等学校・北海道札幌市)	2019	10
70	動物難治性疾患に対する創薬研究牛白血病の最新知見～北海道大学臨床検査診断結果に基づく実践的対策の紹介～(招)	今内 寛	みなみ北海道農業共済組合南部家畜診療センター講習会（みなみ北海道農業共済組合・北海道千歳市）	2019	11
71	牛白血病の最新知見～北海道大学臨床検査診断結果に基づく実践的対策の紹介～(招待講演)	今内 寛	北海道獣医師会宗谷支部令和元年度新技術講習会（宗谷家畜保健衛生所・北海道浜頓別町）	2019	11
72	「Evaluation of the effects of acidification on isolation of extracellular vesicles from bovine milk」	Rahman MM, Shimizu K, Yamauchi M, Okada A, Inoshima Y	2019 Annual Meeting of International Society for Extracellular Vesicles	2019	4
73	「Comparison of acidification and ultracentrifugation as procedures for extracellular vesicle isolation from bovine milk」	Rahman MM, Shimizu K, Yamauchi M, Okada A, Inoshima Y	7th Sapporo Summer Symposium for One Health 2019 (SaSSOH 2019)	2019	9
74	「ウシ生乳の細胞外小胞分離における酸処理による影響の比較解析」	Rahman MM, Yamauchi M, Shimizu K, Takase H, Ugawa S, Okada A, Inoshima Y	第6回日本細胞外小胞学会	2019	10
75	SseJを用いた新規のサルモネラ症ワクチン	中山ももこ、Swarmistha Devi Aribam、小川洋介、下地善弘、江口正浩	日本細菌学会	2021	3
76	牛伝染性リンパ腫(旧名:牛白血病)の最新知見 北海道大学による臨床検査診断結果に基づく実践的対策の紹介	今内 寛	令和2年家畜診療等技術北海道地区研修会（招待講演）	2020	10
77	家畜の慢性感染症制御の難しさ～免疫から逃れる病原体たち～	今内 寛	令和2年度獣医療提供体制整備推進総合対策事業:新規獣医師臨床研修促進事業(招待講演)	2020	10
78	牛慢性感染症におけるプロスタグランジンE2の機能解析と新規制御法開発を目的とした臨床研究（日本獣医学会奨励賞受賞）	佐治木大和	第163回日本獣医学会学術集会	2020	9
79	牛白血病ウイルス感染症における免疫抑制受容体TIM-3の発現解析および機能解析（日本獣医学会微生物分科会・第11回）	中村隼人、今内 寛ほか	第163回日本獣医学会学術集会	2020	9
80	Proteomic analysis of milk extracellular vesicles obtained from bovine leukemia virus-infected cows	Rahman MM, Takashima S, Kamatari YO, Yassien B, Shimizu K, Ayaka Okada, Yasuo Inoshima.	8th Sapporo Summer Symposium for One Health 2020 (SaSSOH 2020)	2020	9
81	Proteome analysis of milk extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cows	Rahman MM, 高島茂雄, 鎌足雄司, Yassien badr, 清水薫, 岡田彩加, 猪島康雄	第163回 日本獣医学会	2020	9
82	牛伝染性リンパ腫ウイルス感染牛の生乳エクソソームのプロテオーム解析	Rahman MM, Takashima S, Kamatari YO, Badr Y, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y	第7回日本細胞外小胞学会	2020	10

83	Protection against Salmonella oral infection by T3SS virulent protein and heat-killed bacteria	Swarmistha Aribam, Marta Elsheimer-Matulova、小川 洋介、白岩 和真、西川 明芳、下地 善弘、江口 正浩	第162回日本獣医学会	2019	9
84	SseJを用いた新規のサルモネラ症ワクチン	中山ももこ、アリバムスワルミスタ、小川洋介、下地善弘、江口正浩	第94回日本細菌学会総会	2021	3
85	サルモネラ症に対する新規ワクチンの開発とその防御機構の解析	中山ももこ、Swarmistha Devi Aribam、小川洋介、下地善弘、江口正浩	第164回日本獣医学会学術集会	2021	9
86	牛リンパ腫の防除戦略	今内 覚(招待講演)	令和3年度家畜診療等技術全国研究集会	2022	2
87	牛伝染性リンパ腫における免疫学的解析を基盤とした新制御法の試み	今内 覚(招待講演)	令和3年度日本獣医学会市民公開講座	2022	2
88	動物用バイオ医薬品の開発と応用研究	今内 覚(招待講演)	令和3年度 日本薬剤師会農林水産薬事薬剤師部会 動物薬事研修会	2022	2
89	牛伝染性リンパ腫の病態発生機序解析を基盤とする新制御法の試み	今内 覚(招待講演)	日本家畜衛生学会 第94回大会・家畜衛生フォーラム2021	2021	12
90	牛伝性性リンパ腫の最新知見について	今内 覚(招待講演)	令和3年度家畜保健衛生所病性鑑定技術検討会	2021	11
91	牛伝染性リンパ腫の現状と対策	今内 覚(招待講演)口	ささえや製薬学術セミナー	2021	10
92	動物の慢性感染症と免疫チェックポイント分子	今内 覚(招待講演)口	十勝家畜保健衛生所講演会	2021	9
93	牛伝染性リンパ腫の新たな知見	今内 覚(招待講演)	北海道獣医師会十勝支部産業講習会	2021	9
94	牛伝染性リンパ腫発症母牛における子宮内感染の解析	嶋倉穂南、今内覚、岡川朋弘、中村隼人、神谷可菜、齋藤麻矢、前川直也、村田史郎、大橋和彦	第164回日本獣医学会学術集会口	2021	9
95	ウシCTLA-4ならびにPD-L1を標的とした抗体併用法による免疫増強効果の検討	渡 慧、今内 覚、岡川朋弘、前川直也、村田史郎、鈴木定彦、大橋和彦	第164回日本獣医学会学術集会口	2021	9
96	Enhanced production of IL-2 by combination of anti-Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4 chimeric antibody with Programmed Death Ligand 1 blockade□	Kei WATARI, Satoru KONNAI, Tomohiro OKAGAWA, Naoya MAEKAWA, Yasuhiko SUZUKI, Shiro MURATA, Kazuhiko OHASHI	The 9th Sapporo Summer Seminar for One Health□	2021	8
97	牛伝染性リンパ腫の最新知見	今内 覚(招待講演)	オホーツク獣医師会獣医新技術講習会	2021	7
98	免疫チェックポイント阻害薬による腫瘍免疫療法について	今内 覚(招待講演)	One Healthリサーチセンター キックオフシンポジウム	2021	5
99	Identification of mRNA biomarkers in milk EVs from high risk cattle of BLV transmission	Rahman MM, Takashima S, Kamatari YO, Badr Y, Kitamura Y, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y	第164回日本獣医学会学術集会	2021	9
100	mRNA dynamics in milk extracellular vesicles in correlation with bovine leukemia virus copy number in cattle	Rahman MM, Takashima S, Kamatari YO, Kitamura Y, Shimizu K, Okada A, Inoshima Y	第8回日本細胞外小胞学会	2021	10
101	Effect of intramammary infection on serum albumin, IgG1 and IgG2 levels in mammary secretions from dairy cows at 9-12 days before calving	Watanabe Aら	The 2018 International Bovine Mastitis Congress (NMC Milano 2018)	2018	6

(3) 出版図書

区分:①出版著書、②雑誌(学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	出版社	発行年	発行月
------	----	-----------	-----	-----	-----	-----

1	①	動物用ワクチンとバイオ医薬品－新たな潮流	岡川朋弘、今内 覚ほか	文永堂出版	2017	7
2	①	近年の重大疾病と予防策 地方病型(流行型)牛白血病	今内 覚	デーリーマン増刊号「テレビ・ドクター4 よく分かる乳牛の病気100選」	2017	10
3	①	皮膚に異常を示す病気 散発性牛白血病	今内 覚	デーリーマン増刊号「テレビ・ドクター4 よく分かる乳牛の病気100選」	2017	10
4	②	ヨーネ病の病態発生機序の解析	今内 覚、永田礼子、川治聡子、森 康行	畜産技術	2018	10
5	①	「動物の感染症」	今内 覚、他	近代出版	2019	印刷中
6	②	徹底防除:ヨーネ病 病態発生のメカニズムと新規制御法	今内 覚	北海道協同組合通信社	2019	10
7	①	動物の感染症<第4版>	今内 覚ほか	近代出版	2019	4
8	④	Academic Fantasia (免疫療法で動物を救う)	今内 覚	北海道大学	2019	4
9	②	月刊「畜産技術」7月号(ウベリスレンサ球菌性乳房炎:原因菌の伝播、予防、治療)	渡部 淳	畜産技術協会	2020	7
10	①	主要症状を基礎にした牛の臨床3	今内 覚ほか	デーリィマン社	2020	5
11	①	獣医内科学第3版□	今内 覚ほか	文永堂出版	2022	3
12	②	月刊「畜産技術」7月号(ウベリスレンサ球菌性乳房炎:原因菌の伝播、予防、治療)	渡部淳	畜産技術協会	2020	7

(4)国内特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	出願番号	出願年月日	取得年月日
1	②	SseJタンパク質を用いたサルモネラワクチン	江口正浩、枅鏡優美子、小川洋介、下地善弘、Marta ELSHEIMER MATULOVA	農研機構	特願2018-128150	2018/7/5	
2	②	組換え牛白血病ウイルス及びその利用	安藤 清彦、西森 朝美、畠間 真一	農研機構	特願2019-159735	2019/9/2	

(5)国際特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	出願番号	出願年月日	取得年月日	出願国
1	②	SseJタンパク質を用いたサルモネラワクチン□	江口正浩、Marta ELSHEIMER MATULOVA、枅鏡優美子、小川洋介、下地善弘	農研機構	PCT/JP2019/026793	2019/7/5		PCT