

学 位 論 文 題 名

オスマダニ由来分子を標的とした
抗ダニワクチン抗原の探索

学位論文内容の要旨

マダニ媒介性感染症はマダニと宿主の間で病原体の感染環が維持されるために防圧が困難であり、家畜生産性の低下や家畜の移動制限、家畜改良への障害などの原因となっている。本研究では、特に *Theileria parva* (*T. parva*) とそのベクターである *Rhipicephalus appendiculatus* (*R. appendiculatus*) に焦点を当て、*T. parva* の野外疫学調査および感染宿主の免疫応答に関して検討し、マダニ媒介性感染症の新たな防除方法として抗ダニワクチンの抗原探索を行った。

はじめに、ザンビア共和国において分子疫学調査を行った結果、家畜牛とマダニにおいて高い *T. parva* の感染率が認められた。更に、*T. parva* は *R. appendiculatus* 成ダニの吸血中期 (吸血開始から約72時間以降) に宿主に移行し、宿主体内では原虫増殖に伴い臨床症状の顕性化と炎症性サイトカイン (IL-1およびIL-6) の過剰発現が認められた。従って、原虫の急激な増殖が炎症性サイトカインを誘導し、臨床症状の進行に関与していると考えられた。

次に、新たなマダニコントロール法として交尾時にオスからメスへ伝達されるオスマダニ由来分子に注目し、マダニの吸血および繁殖を抑制する抗ダニワクチンの可能性を検討した。まず、精巣由来cDNA libraryから得られた新規遺伝子 (*R. appendiculatus* Male-specific Protein: RAMP) の遺伝子解析と機能解析を行った。その結果、RAMPはオスマダニの精包中に含まれ、交尾時にメスマダニに伝達される分子であることが確認されたが、r-RAMPによる抗ダニ効果は得られなかった。更に、オス由来分子でメスの吸血を促進する機能が報告されている *voraxin* のクローニングならびに遺伝子解析を行い、r-*voraxin* を抗原とした抗ダニワクチン効果の検討を行った。その結果、*voraxin* は精巣に由来する分子であり、他のマダニ種の *voraxin* と高いアミノ酸相同性を示したことから、異なるマダニ種間で高度に保存されている分子であると考えられた。また、r-*voraxin*α 免疫によりメスマダニの有意な吸血量と産卵量の減少がみられた。

本研究で得られた知見から、オスマダニ由来の分子がメスマダニの吸血に影響を及ぼし、有効な抗ダニワクチン候補抗原であることが示された。今後、更なるオス由来分子の探索や他のマダニ抗原との併用による有効な抗ダニワクチンの開発が重要であると考えられる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	大橋	和彦
副査	教授	片倉	賢
副査	准教授	今内	覚
副査	名誉教授	小沼	操

学位論文題名

オスマダニ由来分子を標的とした 抗ダニワクチン抗原の探索

マダニ媒介性感染症は、マダニと宿主の間で病原体の感染環が維持されるために防除が困難であり、家畜生産性の低下や家畜の移動制限、家畜改良への障害などの原因となっている。本研究では、特に *Theileria parva* とそのベクターである *Rhipicephalus appendiculatus* に焦点を当て、*T. parva* の野外疫学調査および感染宿主の免疫応答に関して検討し、さらにマダニ媒介性感染症の新たな防除方法として抗ダニワクチン開発のため、候補抗原の探索を行った。

はじめに、ザンビア共和国において分子疫学調査を行った結果、家畜牛とマダニにおいて *T. parva* の高い感染率が認められた。さらに *T. parva* は、*R. appendiculatus* 成ダニの吸血中期（吸血開始から約 72 時間以降）に宿主に移行して、宿主体内では原虫増殖に伴い臨床症状の顕性化と炎症性サイトカイン（IL-1 β および IL-6）の過剰発現が認められた。以上の結果より、原虫の急激な増殖が炎症性サイトカインを誘導して臨床症状の進行に関与していると考えられた。

次に、マダニの新規防除法として、交尾時にオスからメスへ伝達されるオスマダニ由来分子に注目し、マダニの吸血および繁殖を抑制する抗ダニワクチンの可能性を検討した。まず精巣由来 cDNA library から得られた新規遺伝子（*R. appendiculatus* Male-specific Protein: RAMP）の遺伝子解析とその機能解析を行った。その結果、RAMP はオスマダニの精包中に含まれおり、交尾時にメスマダニに伝達される分子であることが確認されたが、大腸菌発現系を用いて調製した組み換え RAMP の免疫による抗ダニ効果は認められなかった。さらにオス由来分子でメスの吸血を促進する機能が報告されている *voraxin α* 遺伝子のクローニングならびに遺伝子解析を行い、そして組み換え *voraxin α* (r-*voraxin α*) を調製してその抗ダニ効果を検討した。その結果、*voraxin α* は精巣由来の分子であり、他のマダニ種の *voraxin α* と高いアミノ酸相同性を示したことから、異なるマダニ種間で高度に保存されている分子であると考えられた。そして調製した r-*voraxin α* の免疫により、メスマダニの吸血量と産卵量に有意な減少がみられた。

以上より、オスマダニ由来の分子がメスマダニの吸血に影響を及ぼし、有効な抗ダニワクチン候補抗原であることが示された。今後さらなるオス由来分子の探索や他のマダニ抗原との併用による有効な抗ダニワクチンの開発が重要であると考えられる。

本研究は、ダニを介した *T. parva* 感染に対する宿主の免疫応答の一端を明らかにして、さらに媒介ベクターであるダニの新規防除法として抗ダニワクチン開発に非常に有用な情報を提供して

いる。よって、審査委員一同は、山田慎二君の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。