



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular investigation of tick-borne protozoan parasites at the livestock- wildlife interface in Kenya and evaluation of a candidate anti-tick vaccine antigen [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Githaka, Naftaly Wang'ombe
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11071号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53832
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Naftaly_Githaka_abstract.pdf, 「論文内容の要旨」



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：Naftaly Wang'ombe Githaka

学位論文題名

Molecular investigation of tick-borne protozoan parasites at the livestock-wildlife interface in Kenya and evaluation of a candidate anti-tick vaccine antigen

（ケニア共和国の家畜および野生動物緩衝地帯におけるダニ媒介性原虫
の分子生物学的解析と抗ダニワクチンの開発）

マダニおよびマダニ媒介性疾患は、家畜の生産性低下や野生動物の死亡原因および人獣共通感染症などの公衆衛生上の観点から世界中で問題になっている。現在、マダニに対する制御法は抗ダニ剤によるものが主であるが、環境汚染や耐性ダニの出現などの問題も多く、新たな対策法の開発が求められている。

ケニア共和国（ケニア）では野生動物は貴重な観光資源である。しかし近年、密猟等に加え感染症を原因とする野生動物数の減少が危惧されている。南アフリカ共和国ではダニ媒介性原虫による感染が問題視されているが、ケニアにおいてはこれまで詳細な調査がなされていない。また、野生動物から家畜へのマダニ媒介性病原体の伝播も危惧されており、詳細な研究調査が求められている。そこで本研究では、第1章第1節でネコ科野生動物、第2節でキリンにおける *Babesia* 原虫および *Theileria* 原虫の疫学調査ならびに分子生物学的解析を行った。また第3節では、家畜と野生動物間のマダニ媒介性病原体の伝播の可能性を探るため、家畜および野生動物緩衝地帯において *Theileria parva* (*T. parva*) の分子疫学調査を行った。さらに第2章では、抗ダニワクチンの開発を目的として、*Ixodes persulcatus* (*I. persulcatus*) から候補抗原を同定し、その抗原の抗ダニ効果について検討した。

ケニア国内で採取した野生動物由来 DNA 検体を用いて、PCR 法および reverse line blot (RLB) 法により、*Babesia* 原虫および *Theileria* 原虫の分子疫学調査を行った。さらに陽性検体については、遺伝子比較解析を行った。その結果、ヒョウからは *Babesia leo* (*B. leo*) および新規の *Babesia* 原虫種の遺伝子が検出された。またライオンからは *B. canis* の感染が認められ、チーターからは新規の *Theileria* 原虫種の遺伝子が検出された。一方、マサイキリン (*Giraffa camelopardalis tippelskirchi*) およびアミメキリン (*Giraffa camelopardalis reticulata*) を RLB 法に

よって診断した結果、13 頭中 12 頭から *Theileria* 原虫遺伝子が検出された。18S rRNA 遺伝子の解析の結果、これらの原虫は 2 種類の新規 *Theileria* 原虫であることが明らかになった。

T. parva は、致死率が極めて高いウシの東海岸熱の起因病原体である。実験感染等により、ウォータバック (*Kobus defassa*) が *T. parva* のレゼルボア的一种である可能性が示唆されているが、野外における詳細な調査研究はない。そこで、ウォータバックと家畜であるウシが共存する Marula 地区において、*Theileria* 原虫感染の分子疫学調査を行った。その結果、検査したウシ 86 頭で高率な *T. parva* 感染が認められた。一方、ウォータバック 26 頭からは 3 種に大別される新規の *Theileria* 原虫が検出されたが、*T. parva* は検出されなかった。

抗ダニワクチンの開発を目的に、鉄貯蔵タンパクの一種である Ferritin 2 (FER2) に着目し *I. persulcatus* および *R. appendiculatus* から Ferritin 2 遺伝子全長を同定した。得られた情報をもとに組換え *I. persulcatus*-Ferritin 2 (I.pFER2) を作製して、モルモットを用いて I.pFER2 の抗ダニワクチンの効果の検討を行った。その結果、I.pFER2 免疫により *I. persulcatus* の有意な吸血量の減少と産卵量の減少が認められた。さらに I.pFER2 は、異種のダニである *I. ovatus* に対しても抗ダニ効果が認められ、広いスペクトルを示す抗ダニワクチン抗原として期待された。

本研究で得られた知見から、ケニアに分布する野生動物には種々の *Babesia* 原虫や *Theileria* 原虫が感染していることが明らかとなった。今後、病原性等の詳細について検討する必要がある。一方で、高率にウシの *T. parva* 感染が認められた地区のウォータバックからは *T. parva* は検出されなかった。ウォータバックが *T. parva* のレゼルボアとなりうるかは、未だ不明であり、今後も検証が必要であると考えられた。また、鉄貯蔵タンパクである I.pFER2 を用いたワクチン試験より、本因子がマダニの吸血や産卵を阻害する有用な抗ダニワクチン候補抗原であることが示された。今後、家畜を用いた試験や他のマダニに対する効果について検討を重ね広いスペクトルを示す抗ダニワクチンとして応用可能か検討する必要があると考えられた。