



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on modulation of immune responses by poultry red mite, <i>Dermanyssus gallinae</i> , and development of the novel control strategies [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	藤澤, 宗太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15046号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86012
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	FUJISAWA_Sotaro_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：藤澤 宗太郎

審査委員	主査	教授	野中	成晃
	副査	教授	大橋	和彦
	副査	准教授	中尾	亮
	副査	助教	村田	史郎

学位論文題名

Studies on modulation of immune responses by poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, and development of the novel control strategies

(ワクモによる宿主免疫応答の調節と新規制御法の開発に関する研究)

ワクモ (*Dermanyssus gallinae*) はニワトリを含む鳥類の外部寄生虫であり、その吸血により、貧血や産卵率の低下など生産性の著しい低下を招く。現在、養鶏場でのワクモの防除には殺ダニ剤が用いられるが、薬剤による生産物や環境の汚染や薬剤耐性ワクモの出現が問題となっており、新たな防除法の開発が望まれている。近年、新規防除法として、抗マダニワクチンを応用した抗ワクモワクチンが注目されているが、未だ実用化に至っていない。抗ワクモワクチンによる制御法を樹立するためには、吸血時に高い発現を示す分子など、より有効なワクチン抗原の探索が不可欠であるが、そのような分子を効率的かつ網羅的に探索するには、遺伝子発現を含むワクモの生物学的特徴を吸血状態別に精査することが必要である。しかし吸血や飢餓状態での遺伝子発現の変動については未だ解析されていない。さらにワクモと同じ吸血性の外部寄生虫であるマダニや蚊では、唾液中の様々な分子による宿主免疫応答の抑制が知られており、感染症リスクの増大等、間接的な被害も引き起こす可能性がある。したがってワクモによる寄生が宿主免疫応答に与える影響を解明することは、養鶏場における吸血被害や感染症の制御を検討する上で重要である。そこで本研究では、ワクモの吸血が宿主に及ぼす影響をより詳細に解明して効果的な抗ワクモワクチン抗原を探索するために、吸血状態別のワクモのトランスクリプトーム解析を行い、その結果をもとに新規ワクチン抗原候補分子を同定して、その性状解析とワクチン抗原としての有用性を検討した。またワクモ汚染及び非汚染農場のニワトリから血液を採材して、ワクモの寄生が宿主の免疫応答に与える影響を解析した。

第1章では、吸血及び飢餓ワクモを用いた RNA シーケンスにより各吸血状態のワクモのトランスクリプトームを比較解析した。ワクモの遺伝子発現パターンは、吸血により大きく変動し、Gene ontology 解析の結果、吸血状態では金属イオンの結合に関する遺伝子が高頻度で発現しており、ニワトリ血液中に含まれる金属イオンの運搬、貯蔵、または解毒作用が亢進することが示唆された。また吸血状態では ATP 合成や代謝に関する遺伝子の発現頻度が高く、飢餓状態では代謝抑制やオートファジー、糖新生に関する遺伝子群

の発現が高頻度に認められた。

第 2 章では、ワクモの吸血に対する宿主免疫応答の解析を行った。ワクモを用いた RNA シーケンス(第 1 章)で得られたニワトリ由来遺伝子の解析やワクモ汚染及び非汚染農場のニワトリ由来血液試料を用いた解析から、ワクモの吸血により、末梢血では炎症性ケモカイン **C-C chemokine ligand 4 (CCL4)** が非常に高く発現していることが示された。また汚染農場のニワトリでは、抗炎症性サイトカインや免疫チェックポイント分子など免疫抑制因子が高発現していたが、**C-C chemokine receptor 5(CCL4 受容体)**の発現は低かったため、ワクモに慢性的に曝露されたニワトリは免疫抑制状態にあることが示唆された。次に、ワクモ由来可溶性抽出物存在下でニワトリの免疫細胞を培養したところ、特にマクロファージ様細胞でインターフェロン α や炎症性サイトカインの発現が低下し、**M2** 様マクロファージのマーカー遺伝子発現が上昇した。以上より、ワクモの吸血が宿主の易感化に寄与している可能性が示された。

第 3 章では、RNA シーケンス(第 1 章)の結果をもとにワクチン抗原候補としてシスタチン様分子 (**Dg-Cys**)、銅イオントランスポーター様分子 (**Dg-Ctr1**)、及び **adipocyte plasma membrane-associated protein** 様分子 (**Dg-APMAP**) の 3 種類を同定した。いずれの候補分子も吸血を行う全ての発育ステージで吸血状態を問わず発現しており、中腸に発現していることが示された。次にこれら分子の組換えタンパク質を免疫したニワトリから得た免疫血漿をワクモに吸血させることで、抗ワクモ効果を検討した。いずれの免疫血漿を吸血したワクモでも陰性対照群に比べ生存率の低下が認められ、本研究で同定した 3 種類の分子のワクチン抗原としての有用性が示唆された。さらに、**Dg-Cys** の免疫血漿と **Dg-Ctr1** または **Dg-APMAP** の免疫血漿と組み合わせた混合血漿は、単独の免疫血漿に比較して殺ダニ効果の増強が認められた。以上より、複数の抗原を組み合わせたカクテルワクチンが、ワクモに対する新規防除法として有用である可能性が示された。

本研究は、吸血状態別のワクモの発現分子の情報基盤の確立、ワクモの吸血による宿主の免疫抑制機序の解明、有効な抗ワクモワクチン候補分子の同定などで成果を挙げており、ワクモの新規防除法の開発に向けて多くの有用な知見を提供している。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者藤澤宗太郎氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。