

二国間交流事業 共同研究報告書

令和6年4月8日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]

鹿児島大学・共同獣医学部

[職・氏名]

教授・田仲哲也

[課題番号]

JPJSBP 120206002

1. 事業名 相手国: エジプト(振興会対応機関: STDF)との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 組換えアクアポリンとフェリチンのクリイロコイタマダニに対するワクチン評価

(英文) Evaluation of novel aquaporin 1 and ferritin 2 recombinant vaccines targeted against
Rhipicephalus sanguineus tick infestations3. 共同研究実施期間 令和2年8月1日 ~ 令和6年3月31日 (3年8ヶ月)【延長前】 令和2年8月1日 ~ 令和5年3月31日 (2年8ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

National Research Center, Head, Mahmoud Mona Said

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,750,000 円
内訳	1年度目執行経費	1,187,500 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	1,187,500 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	3名
相手国側参加者等	6名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目			()
2年度目			()
3年度目			()

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。
受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

日本側参加者の役割分担として、マダニのアクアポリンとフェリチンに関して実績を有する田仲が研究総括を、マダニ組換えワクチンの開発に実績がある宮田と草木迫が「抗マダニワクチン」の骨子となるアクアポリンとフェリチン遺伝子のクローニングを行った。その後、これらのクローニングした遺伝子配列を基にカイコ発現系を用いて、組換え体を作製することを試みた。

しかし残念ながら、コロナウイルスの影響のためエジプトに行けず、クリロコイタマダニの検体を得ることができなかった。そのため、日本ではクリロコイタマダニを入手するのが困難であったため、当研究室で維持・継代しているフタゲチマダニを用いて、アクアポリンとフェリチン遺伝子のクローニングを行った。その後、カイコ発現系を用いて組換えアクアポリンとフェリチンを作製し、組換えフェリチンについては精製に成功した。その後、組換えフェリチンの生化学的な特性や免疫原性について調べた。ただ残念なことに、アクアポリンについては膜タンパク質であるため、カイコ発現系ではうまく組換え体を発現および精製することができなかった。

その後、エジプトからクリロコイタマダニを入手することができたので、クリロコイタマダニのアクアポリンとフェリチン遺伝子のクローニングを行い、これらの遺伝子配列を同定することに成功した。組換えアクアポリンとフェリチンを作製するために、カイコ発現系のみならず、チャイニーズハムスターの卵巣(CHO)細胞発現系を用いて、組換え体を作製した。その結果、組換えフェリチンの発現および精製に成功したが、アクアポリンについてはカイコ発現系と同様に発現に至らなかった。そのため、アクアポリンについては、Modelagon による抗体に対するエピトープ解析を行った。さらに、Alhahold2 による抗原となりうる合成ペプチドの予測構造の解析を行った。これらの解析結果に基づいて、ワクチン抗原に相応しいアクアポリンペプチドを合成した。

エジプト側参加者の役割分担として、Mahmoud 博士を中心に、マダニの組換えフェリチンと合成アクアポリンペプチドを免疫した犬から血清を採取し、組換え体や合成ペプチドに対する抗体価を調べることである。次に組換え体に対する抗体価の上昇が確認された免疫犬については、マダニを吸血させ、マダニの飽血体重や死亡率を非免疫犬と比較することで、抗マダニワクチン効果を評価する。これらのワクチン効果を検証するために、CHO 細胞で発現した組換えフェリチンとアクアポリンペプチドをエジプトへ送付した。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

マダニ吸血における水分や鉄代謝を制御する AQP や FER を標的とした本研究の成果は、マダニ以外の吸血性節足動物に対しても同様の基盤に基づく新たな研究と制御法の考案を可能にするものである。そのため、マダニ生存基盤である吸血消化・繁殖を根本的にたたき、これまでの化学的殺ダニ剤とは全く作用機序の異なる神経毒性がない抗マダニワクチンは抗マダニ薬の先駆けになる可能性が高い。すなわち、マダニの吸血を支える水分や鉄代謝に着想した研究は、新たなマダニ制圧技術を開発する一連の研究展開となり、かつ世界に先駆けて挑戦するもので、他に例をみない。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

日本側研究代表者はエジプト側研究代表者からエジプトにおけるクリロコイタマダニによる犬のマダニ媒介性疾患の被害実情を知らされ、2018 年度からその対策方法について協議してきた。特に、リケッチアやバベシアは犬に重度の発熱・貧血・黄疸を主徴とする致死性の感染症を引き起こし、人に感染する可能性もある。日本国内にもこれらの病原体を媒介するクリロコイタマダニの存在が確認されているために、リケッチアやバベシアに感染したクリロコイタマダニが国内に侵入すれば広く蔓延する可能性が大きく、その洗浄化は非常に困難と想定される。そのため、クリロコイタマダニに焦点をあて、抗マダニワクチンを開発することにより、エジプトのマダニ対策の向上とともに日本国内への侵入の水際対策が可能となる。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

マダニとマダニ媒介性感染症が国際保健と世界経済に与える脅威は甚大であり、化学的殺ダニ剤を用いた防除費用は世界全体で毎年約 3 兆円にも及ぶと報告されている(Walker, Parasitology, 2011)。したがって、マダ

ニ防除を可能とし、洗浄化を持続できる方策の開発は、世界的に重要な急務であり、とりわけベクターであるマダニを防圧・コントロールすることは、マダニ媒介性疾患の制圧を図る上でも社会的に重要な意義を有すると考えている。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

本交流事業に参加する研究者は、ほとんどが若手研究者である。今後、これらの大学院生を含めた若手研究者を相互に派遣し合い、共同研究や専門技術の相互移転を行うことで、日本もしくはエジプトにおいて若手研究者が中心となって企画する研究報告会を実施する予定である。これにより研究技術・知識のみならず、研究の立案・企画能力ならびに討論レベル等、総合的な研究能力の向上を図る。本研究では、鹿児島大学の国際共同研究制度も活用し、若手研究者をエジプトにおけるフィールド研究に参画させ、国際感覚の涵養を図る。その結果、将来的に国際舞台で活躍できるグローバルリーダーとしての素養が身につけられるものと期待できる。さらに、日本・エジプト双方の研究代表者が中心となって、本共同研究事業だけでなく、将来にわたって持続的な若手研究者育成のための交流計画を進めることも可能である。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本研究の実施により、エジプトにおけるマダニの抗マダニワクチンによる予防対策の構築が実現できれば、エジプトペット業界の向上のための「国際貢献」と外来マダニ種の日本への侵入を未然に防ぐための「自己防衛」に繋がると考えられる。また、マダニ媒介性感染症をもたらす病原体伝播の阻止効果も期待できることから、安全性やペットへの薬物残留など化学的殺ダニ剤が抱えている諸問題を解決できる革新的技術である。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例: 大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

2022年7月7日に鹿児島大学共同獣医学部と National Research Center が学部間学術協定を締結した。