

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 120219936

1. 事業名 相手国: フィリピン (振興会対応機関: OP) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) オウシマダニ防圧へ向けた抗酸化分子を標的とする RNA 殺ダニ剤の開発

(英文) Development of RNA acaricide as a target against anti-oxidant molecule for control of

*Rhiciphalasis (Boophilus) microplus*3. 共同研究実施期間 令和3年4月1日 ~ 令和6年3月31日 (3年0ヶ月)【延長前】 令和3年4月1日 ~ 令和5年3月31日 (2年0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

University of the Philippines, Associate Professor, Galay Remil Linggatong

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		3,800,000 円
内訳	1年度目執行経費	1,900,000 円
	2年度目執行経費	1,900,000 円
	3年度目執行経費	- 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	2名
相手国側参加者等	3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			1(0)
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、マダニの抗酸化分子に関して豊富な実績を有する田仲が組換え抗酸化分子の作製やこれらに対する抗体の作製を行った。RNAi の研究に実績のある草木迫は「RNA 殺ダニ剤」の目玉となる dsRNA バイオナノカプセルの作製を行うことを試みた。

しかし、残念ながらコロナウイルスのためフィリピンに行けず、オウシマダニの検体を得ることができなかった。そのため、日本ではオウシ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・継代しているフタトゲチマダニを用いて以下の実験を行った。

①組換え FER、PRX、GST に対する抗体の作製

FER、PRX、GST 遺伝子の転写解読枠(ORF)に基づいて作製したプライマーを用いた PCR を行い、PCR 断片を大腸菌で発現した。その後、得られた組換え体をそれぞれマウスに頻回接種して、抗 FER 抗体、抗 PRX 抗体、抗 GST 抗体を作製した。

②RNAi による FER、PRX、GST 遺伝子ノックダウンの確認

FER、PRX、GST dsRNA カクテル溶液を作製し、直接マダニを浸漬した。その後、RNAi による FER、PRX、GST 遺伝子のノックダウンを行い、浸漬 4 日後に RT-qPCR や①で作製した抗体を用いてウエスタンブロット法による FER、PRX、GST 遺伝子発現の抑制について確認した。

③FER・PRX・GST dsRNA バイオナノカプセルの作製

マダニ体内での標的遺伝子に特異的な RNAi を惹起させるためには、マダニが飽血・脱皮に至るまで(平均 30 日)、dsRNA の活性を長期間保持させる必要があると考えられる。この目的のために、リポソームなどのキャリアーを用いて、最も適切な FER、PRX、GST を組み合わせた dsRNA のリポソームによるバイオナノカプセル化を検討した。

フィリピン側の役割分担として、Galay 博士を中心に、オウシマダニの採材と、dsRNA を用いた RNAi によるオウシマダニ抗酸化分子遺伝子のノックダウンの確認を行う予定である。以上、オウシマダニの抗酸化分子を標的とする RNA 殺ダニ剤を開発するために、各々の密接な連携と効率的な分担のもとで今後も研究を展開する。

(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酸化ストレスに対する抗酸化分子を標的とする本研究の成果は、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。すなわち、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 RNA 殺ダニ剤は抗マダニ薬の先駆けになる可能性が高い。また、マダニの吸血を支える酸化ストレスに着想した研究は、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)

研究代表者らは日本と地理的に近いフィリピンにおけるマダニ媒介性疾病の流行の実態を明らかにすることに着目し、これまでオウシマダニによって媒介するマニラ近郊における牛・水牛のアナプラズマやバベシア原虫など、マダニ媒介性病原体の流行実態を PCR や LAMP によって調査した。特に、アナプラズマやバベシア原虫は牛に重度の貧血・黄疸を主徴とする致死の感染症を引き起こし、その多くは日本では家畜(法定)伝染病として指定されているが、幸い今のところ日本国内には存在していない。ところが、かつて沖縄や九州阿蘇地方にはこれらの病原体を媒介するオウシマダニの存在が確認されているために、再度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、オウシマダニに焦点をあて、RNA 殺ダニ剤を開発することにより、フィリピン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することは、マダニ媒介性疾病の制圧を図る上で社会的に重要な意義がある。

(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)

日本側研究者である草木迫は、大学の若手研究者としてマダニやマダニ媒介性感染症に関連する研究に取り組んでいる。本研究では、鹿児島大学の国際共同研究制度も活用し、学部・大学院生を含めた若手研究者もフィリピンにおけるフィールド研究に参画させる。日本ではなかなか体験できない、フィリピン農場におけるマダニの被害状況を目の当たりにすることで、単なる基礎研究で満足するのではなく、自分の研究を必ず畜産衛生や大動物臨床現場にフィードバックさせようとする意識を植え付ける。本企画を通して、マダニやマダニ媒介性動物感染症に対する基礎・応用研究を同時にダイナミックに展開できる次世代研究者の育成を目指す。

(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、フィリピンにおけるマダニの RNA 殺ダニ剤による防圧対策の構築が実現できれば、フィリピン畜産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、安全性や畜産物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

鹿児島大学とフィリピン大学は 2007 年より 12 月 12 日より大学間学術協定をすでに締結している。