

平成 22 年 4 月 6 日現在

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19208026

研究課題名 (和文) マダニ媒介原虫病の TRANSMISSION-BLOCKING VACCINE 開発

研究課題名 (英文) Developments of transmission-blocking vaccine for tick-borne protozoan diseases

研究代表者

藤崎 幸藏 (FUJISAKI KOUZO)

鹿児島大学・農学部・教授

研究者番号：00292095

研究代表者の専門分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学獣医学・応用獣医学

キーワード：マダニ、*Babesia* 原虫、マダニ生物活性分子、TBM、アミノ酸、TOR、オートファジー、ワクチン

1. 研究計画の概要

本研究は、研究代表者らが分離・特性解明に成功している各種のマダニ生物活性分子 (TBM) に関する最新知見を活用し、また *B. gibsoni* の EST データベースも併用することによって、ガメートからスポロゾイトに至るマダニ体内の全発育期 (SS 期) 虫体について、各種 TBM と反応・結合する原虫分子の探索・同定、特性解明を展開し、最終的にこれらの組換え体複数を用いて、マダニ媒介性原虫病に特有の経発育期・介卵伝播を多段的・多重的に阻止しうる、世界初の多価疾病媒介阻止ワクチン (multi-component transmission-blocking vaccine: TBVs) の実現を図ることである。

2. 研究の進捗状況

(1) RNA 干渉法によって、ピテロジェニン (Vg-2) あるいはその受容体 (VgR) の発現をノックダウンしたマダニでは、*Babesia* 原虫が次世代に伝播されないことを発見し、これら 2 種類の TBM が TBVs 開発のための有力な候補分子となりうることを明らかにした。

(2) マダニ体内における *Babesia* 原虫の発育・増殖は、原虫が寄生する宿主細胞の栄養代謝とバイオマスの多寡に依存性であるとの作業仮説に立ち、マダニの細胞内栄養代謝の分子基盤である TOR アミノ酸シグナル伝達経路に関わる分子群を明らかにし、これを応用した TBVs 開発の可能性を探究している。

(3) これまでに、TOR アミノ酸シグナル伝達経路に関わる IRS、Akt、TOR、S6K、4E-BP などの分子群の探索と特性解明に成功した。

(4) また TOR 経路の支配下にあるオートファジーについても、マダニで初めて Atg8 結合

反応系と Atg12 結合反応系の全容を明らかにし、現在、原虫感染との関わりを探索中である。

3. 現在までの達成度

「②おおむね順調に進展している」と評価できる。その理由は、

(1) 2 種類の TBVs 候補分子の発見に成功したこと。

(2) 世界で初めて原虫感染と宿主細胞の栄養バイオマス代謝の関係を解析するための分子基盤を明らかにしたこと。

(3) (1) (2) の研究成果に立脚した TBVs 開発は、実用性ととも科学的にも、先駆性と新規性に富むものであることによる。

4. 今後の研究の推進方策

(1) Vg-2、VgR と *Babesia* 原虫の分子間クロストークを、様々な原虫発育期を用いてさらに詳細に明らかにすること。

(2) マダニの TOR 経路ならびにオートファジー参画分子の動態と *Babesia* 原虫感染との関わりを、マダニ個体レベルで明らかにし、新たなパラダイムによる TBVs 開発の可能性を探究するとともに、参画分子の阻害薬を用いた原虫媒介阻止の可能性についても検討を図ること。

(3) *Babesia* 原虫自身のオートファジーについて、遺伝子と分子レベルで解析を進め、原虫発育期進行に果たす Atg 分子の役割を明らかにすることによって、原虫感染と媒介の阻止につながる展望を得ること。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ①Liao M, Zhou J, Gong H, Boldbaatar D, Shirafuji-Umemiya R, Battur B, Dong J, Nishikawa Y, Fujisaki K: Hemalin, a thrombin inhibitor isolated from a midgut cDNA library from the hard tick *Haemaphysalis longicornis*. *J. Insect Physiol.* 55, 165-174. (2009). 査読有
- ②Zhou J, Liao M, Ueda M, Gong H, Xuan X, Fujisaki K: Characterization of an intracellular cystatin homolog from the tick *Haemaphysalis longicornis*. *Vet. Parasitol.* 160, 180-183 (2009). 査読有
- ③Gong H, Umemiya R, Zhou J, Liao M, Zhang H, Jia H, Nishikawa Y, Xuan X, Fujisaki K: Blocking the secretion of saliva by silencing the *HLVkt* gene in the tick *Haemaphysalis longicornis*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 39, 372-381 (2009). 査読有
- ④Islam MK, Tsuji N, Miyoshi T, Alim MA, Huang X, Hatta T, Fujisaki K: The hard tick Kunitz inhibitor, Haemangin, is a novel modulator of angiogenesis and wound healing and is crucial for slower blood-feeding arthropods. *PLoS Pathogen* 5, e1000497 (2009). 査読有
- ⑤Battur B, Boldbaatar D, Umemiya-Shirafuji R, Liao M, Battsetseg B, Baymbaa B, Fujisaki K: LKR/SDH plays important roles throughout the tick life cycle including a long starvation period. *PLoS One* 4, e7136 (2009). 査読有
- ⑥Yamaji K, Tsuji N, Miyoshi T, Islam MK, Hatta T, Alim MA, Anisuzzaman, Takenaka A, Fujisaki K: Hemoglobinase activity of a cysteine protease from the ixodid tick *Haemaphysalis longicornis*. *Parasitol. Int.* 58, 232-237 (2009). 査読有
- ⑦Battsetseg B, Boldbaatar D, Battur B, Xuan X, Fujisaki K: Cloning and molecular characterization of tick kynureine aminotransferase (HIKAT) from *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 105, 669-679 (2009). 査読有
- ⑧You M, Fujisaki K: Vaccination effects of recombinant chitinase protein from the hard tick *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). *J. Vet. Med. Sci.* 71, 709-712 (2009). 査読有
- ⑨Boldbaatar B, Battsetseg B, Matuso T, Hatta T, Umemiya-Shirafuji R, Xuan X, Fujisaki K: Tick vitellogenin receptor reveals critical role in oocyte development and transovarial transmission of *Babesia* parasite. *Biochem. Cell Biol.* 86, 331-344 (2008). 査読有
- ⑩Umemiya-Shirafuji R, Matsuo T, Fujisaki

K: Autophagy in ticks. *Meth. Enzymol.* 451, 621-638 (2008). 査読有

[学会発表] (計 7 件)

- ①Boldbaatar D, 白藤 (梅宮) 梨可, 田仲哲也, 松岡輝重, 藤崎幸蔵: Identification and characterization of Forkhead transcription factor from the hard tick, *Haemaphysalis longicornis*. 第 149 回日本獣医学会学術集会. 2010, 3, 28、日本生命科学大学
- ②白藤 (梅宮) 梨可, Boldbaatar D, Liao M, 藤崎幸蔵: RNA 干渉法によるフタトゲチマダニ TOR 様遺伝子の発現抑制、第 149 回日本獣医学会学術集会. 2010, 3, 28、日本生命科学大学.
- ③藤崎幸蔵: マダニの吸血消化の分子基盤: 最近の話題、第 24 回日本動物原虫病学会学術集会. 2010, 3, 28、日本生命科学大学.
- ④藤崎幸蔵: マダニによるバベシア原虫媒介の分子基盤、第 21 回日本薬学会微生物シンポジウム. 2009, 9, 3、福山大学.
- ⑤山地佳代子, 辻 尚利, 三好猛晴, 八田岳士, Abdul M. Alim, M. Anisuzzanman, 榎引史郎, 藤崎幸蔵: マダニカテプシン L 様システインプロテアーゼの性状解析、第 148 回日本獣医学会学術集会. 2009, 9, 25、鳥取大学.
- ⑥藤崎幸蔵: 創薬開発のマダニ生物活性分子、第 147 回日本獣医学会学術集会. 2009, 4, 2、麻布大学.
- ⑦白藤 (梅宮) 梨可, 松尾智英, 藤崎幸蔵: マダニのオートファジー研究の展開: マダニとその媒介病原体の制圧に向けて、第 147 回日本獣医学会学術集会. 2009, 4, 2、麻布大学.

[図書] (計 1 件)

今井壮一、藤崎幸蔵、板垣 匡、森田達志: 講談社、*図説 獣医衛生動物学*、2009、44-100, 132-159, 183-196.

[産業財産権]

○取得状況 (計 1 件)

名称: ダニのキチナーゼ

発明者: 藤崎幸蔵ほか 7 名

権利者: 明治製菓、藤崎幸蔵

種類: 特許

番号: 4452510 号

取得年月日: 平成 22 年 2 月 5 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ

<http://w3vet.agri.kagoshima-u.ac.jp/V-Infection/sinkoukansentoppage.html>