

令和 5 年 5 月 7 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03137

研究課題名(和文) 鶏の外部寄生虫を種横断的に防除する“ユニバーサル”ワクチン候補分子の探索

研究課題名(英文) The search for the candidate molecule for the vaccine to control a wide range of ectoparasite species of chickens

研究代表者

大橋 和彦 (OHASHI, Kazuhiko)

北海道大学・獣医学研究院・特任教授

研究者番号：90250498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：養鶏産業に大きな経済的被害をもたらすワクモなど鳥類のダニ種の新規防除法として、異なるダニ種を横断的に防除できる“ユニバーサル”ワクチンの開発を目指して、RNA-SEQによる発現遺伝子群の網羅的解析によるワクチン候補分子の探索を行い、ダニ種間での交差反応性を示すフェリチン2など数種の分子を同定した。次に同定した候補分子について、各ダニ種由来の組換えタンパク質を調製して鶏に免疫して抗血清を作製した。そしてこれらの抗血清を *in vitro* feeding assayにてワクモに吸血させた結果、抗血清を吸血させたワクモでは、対照群に比較して有意な生存率の低下が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ワクモやトリサンダニなどは、鳥類の代表的な外部寄生虫であり、養鶏産業に大きな経済的被害をもたらしている。現在、その防除には主に駆虫剤が使用されているが、薬剤耐性個体の出現や駆虫剤残存による衛生環境の悪化などが問題となっており、抗ダニワクチンなど新規防除法の開発が必要となっている。本研究で同定した分子は、有効なワクチン抗原として、ワクチン接種鶏で吸血し異なるダニ種の個体に致死的に作用して、鶏舎内の寄生虫個体数を持続的に減少できるダニ種横断的な新規“ユニバーサル”ワクチンの開発に応用可能であり、養鶏産業の持続的な発展に寄与できる。

研究成果の概要(英文)：For the development of a "universal" vaccine, which can broadly and effectively control different mite species, such as poultry red mites (PRM) of the chicken, the search for candidate molecules for the vaccine was made by comprehensive analysis of expressed genes using RNA-SEQ. Several molecules, such as ferritin 2, were identified, and these molecules showed cross-reactivity among the mite species. Next, recombinant proteins derived from each mite species were prepared for each of the candidate molecules identified, and antisera were produced by immunizing chickens with those recombinant proteins. The *in vitro* feeding assay showed that a significant decrease in survival rate was observed in PRMs which were fed with the antisera compared to the control-fed PRMs.

研究分野：獣医学

キーワード：ワクモ

1. 研究開始当初の背景

ワクモ (*Dermanyssus gallinae*) 及びトリサンダニ (*Ornithonyssus sylviarum*) は、鳥類に寄生する体長 0.5~1mm の代表的な外部寄生虫であり、近年、近代鶏舎において通年の大量発生により、吸血による養鶏の貧血や削瘦、産卵率の低下や虫体の死骸による汚卵の発生など大きな被害をもたらしている。また養鶏業が盛んな東南アジア地域では、トリサンダニに近縁なミナミトリサンダニ (*Ornithonyssus bursa*) が優勢に分布しており、同様の被害をもたらしていることが示唆されている。さらにワクモやトリサンダニの寄生は、種々のワクチンの防御効果の低減や、鶏痘ウイルスや一部細菌など病原体の媒介にも関与していることや、ヒトでも皮膚炎やアレルギーを引き起こすことが報告されている。このようにこれら鶏の外部寄生虫対策は産業動物生産現場のみならず公衆衛生領域においても重要な問題となっている。現在のところ、鶏舎における外部寄生虫の防除には、カーバメイト系など市販駆虫剤が使用されているが、近年では薬剤耐性個体の出現による効果減少や駆虫剤残存による動物衛生環境の悪化が問題となっており、駆虫剤以外の新規防除法の開発が急務となっている。そのひとつの方法として、これら寄生虫由来抗原を用いたワクチン接種により、ワクモやトリサンダニなどの吸血を阻害する方法がある(暴露型抗原に対するワクチン)。しかしワクモやトリサンダニなどは、吸血時間が数分~60分以内と短く、吸血を阻止するようなワクチンは効果が不十分であることが予想される。さらにワクチン候補抗原などワクモやトリサンダニ由来分子に関する情報は非常に少ない。また鶏では、種々の病原体に対するワクチンプログラムが確立しており、これらの外部寄生虫に対するワクチンを樹立しても、既存のプログラムへの導入は煩雑となることが予想される。ワクモとトリサンダニ及びミナミトリサンダニは、ともにダニ目に属しており、分類学的に吸血に関与する分子等がダニ種間で保存されている可能性が示唆されており、これらのダニ種間で相同性の高い分子を同定できれば、その分子を応用することで、ダニ種横断的に防御効果を発揮できる新規ワクチンを開発することが可能と思われる。我々は、これまで抗ワクモワクチンの開発を実施してきおり、候補分子として、ワクモ中腸に発現する種々の分子の同定し、さらにその一部の分子の抗ワクモ効果を報告している(国際特許 EP15800403.6 (EU)取得済み)。そこで、本研究では、鶏の代表的な外部寄生虫であるワクモやトリサンダニ、及び近縁なミナミトリサンダニを同時に防除できるダニ種横断的な新規ワクチンの開発を目指して、その候補分子の探索を行った。

2. 研究の目的

ワクモとトリサンダニ及びミナミトリサンダニにおいて、血液の分解や栄養の吸収に機能する生命維持に重要な非暴露型共通抗原の探索を行い、吸血は阻止できないが、吸血した個体に致死的に作用し、鶏舎内の寄生虫個体数を持続的に減少できる新規ダニ種横断的“ユニバーサル”ワクチンの開発を目指して、(1) 国内で採取したワクモやトリサンダニおよびミャンマーで採取したミナミトリサンダニよりゲノム試料を調製し、ワクモ試料を中心として、次世代シーケンサーを用いた RNA-SEQ を行い、網羅的発現遺伝子の解析やこれらの寄生虫間の相同性解析(既に同定した分子を含む)により、これらのダニ種横断的なワクチンの候補分子を探索した。そして、(2) 同定した候補抗原分子やダニ種間で共通抗原として同定した分子に関して、その組換え体を調製して、*in vitro* feeding assay (人工吸血システムを用いたワクモの吸血試験) によるワクモを用いた吸血攻撃試験により、その防御効果を検討した。

3. 研究の方法

鶏の免疫応答による防除に着目して抗ワクモワクチンの開発を目指したワクチン抗原の探索に際しては、ワクモの生物学的情報が極めて重要であるが、特に吸血時におけるワクモの生物学的性状に関する情報は非常に乏しい。そこで RNA-SEQ 解析により、吸血及び飢餓状態のワクモのトランスクリプトームを比較した。吸血及び飢餓状態のワクモを *in vitro* feeding により調製し、それぞれのワクモ個体から全 RNA を抽出して、RNA-SEQ 及び *de novo* アセンブリによりトランスクリプトーム解析を行った。得られた各推定遺伝子配列に対して、モチーフ・ドメインデータベースに基づき機能予測情報を付与した。さらにそれらの遺伝子配列について吸血および飢餓状態における発現強度の比較を行い、Gene Ontology 解析による代謝変動等の解析を行った。

新規“ユニバーサル”ワクチン候補分子を同定する際には、候補分子の発育ステージごとあるいは組織別での詳細な発現解析を行う必要があるが、ワクモなどでは相対的発現量の計測に必須の reference 遺伝子の情報が乏しい。そこで適当な reference 遺伝子を同定して、定量的 real-time PCR 法を樹立した。前述の RNA-SEQ 解析の結果より、吸血及び飢餓状態のワクモにおいて一定の発現強度を示し、発現に大きな変動が認められず、ニワトリ由来の配列とは相同性が低い遺伝子を候補遺伝子として選抜した。また、マダニの内在性コントロール遺伝子として知られる *elongation factor 1 α* (*ELF1 α*) 遺伝子についても検討に用いた。吸血及び飢餓状態のワクモにおける遺伝子発現を比較するため、*in vitro* feeding にて鶏血液をワクモに吸血させ、さらにそのうち一部を再び飢餓状態に戻して、吸血及び飢餓ワクモ試料を調製した。これら試料を用いて、

リアルタイム RT-PCR 法により各遺伝子の発現量を定量して、RefFinder により安定性を評価した。

前述の RNA-SEQ 解析結果に基づいて選抜した遺伝子について、野外ワクモ試料を用いて、個々の遺伝子クローニングを行い、そのオープンリーディングフレーム配列を決定して、系統樹解析およびドメイン予測を行った。次に、それぞれの遺伝子のワクモの組織別、发育ステージ別の遺伝子発現を RT-PCR または RT-qPCR により解析した。また個々の遺伝子がコードする分子の性状解析のため、プレビパチルス菌発現系を用いて組換えタンパク質を調製して、それらを用いて酵素活性などの生物学的活性を検討した。そして組換えタンパク質を鶏に免疫して免疫血漿を作製して、その抗ワクモ効果を *in vitro* feeding assay により検証した。

ワクモ、トリサシダニ、およびミナミトリサシダニなどの鳥由来のダニ種に対する新たな防除戦略として、これらのダニ種を広く同時に制御できる“ユニバーサル”ワクチンの開発を目指して、前述の RNA-SEQ 解析結果などに基づいて、これらのダニ種間で高度に保存され、ダニの生理や成長に重要な機能を持つ分子をワクチン候補抗原として探索した。そしてトリサシダニとミナミトリサシダニで同定した分子についてワクモの各々の遺伝子と相同性を比較した。その後、組換えタンパク質を調製して鶏に免疫して免疫血漿を作製して、組換えタンパク質として調製した異なるダニ種由来分子との交差反応性を評価した。さらに抗ワクモ効果を *in vitro* feeding assay により検証した（本来は他のダニ種を用いた吸血試験も実施すべきであるが、現時点で他のダニ種を用いた吸血試験方法が存在しない）。

4. 研究成果

(1) ワクモの吸血および飢餓時のトランスクリプトーム動態の比較

吸血性の寄生虫の生物学的特徴を詳細に理解するためには、吸血および飢餓状態のトランスクリプトームを比較することが重要である。そこでワクモの吸血および飢餓状態の遺伝子発現パターンを調べて、そのトランスクリプトームから生理機能の動態を検討した。その結果、吸血によりワクモの遺伝子発現パターンは大きく変動していた。そして機能情報の付与された推定遺伝子のうちで、吸血時のワクモでは飢餓状態に比べて 2,154 遺伝子の発現が上昇し、4,175 遺伝子の発現の低下が認められた。これらの発現変動が見られた遺伝子について Gene Ontology 解析を行った結果、吸血ワクモでは金属イオンの結合に関する遺伝子群が高発現し、ニワトリ血液中の金属イオンの運搬、貯蔵、及び解毒作用が亢進することが示唆された。さらに吸血したワクモでは ATP 合成や代謝に関する遺伝子群が高発現しており、脱皮や生殖が促進されることが示唆された。一方で、飢餓ワクモでは代謝抑制やオートファジーに関する遺伝子群の発現が高頻度に認められた。以上の成果は、ワクモの吸血段階に関連する生物学的特性の理解を深め、今後ワクチンをはじめとしたワクモなどの新規防除法の開発への応用が期待される。

(2) ワクモにおける定量的 PCR 法確立のための内在性コントロール遺伝子の探索

有用なワクチン抗原の探索には、吸血および飢餓状態のワクモ由来分子の発現動態は重要な情報となる。しかし、各農場で採取されたワクモ試料の品質に大きなばらつきがあることから、発現レベルの変化を正確に比較するためには、適切な内在性コントロール遺伝子の使用が望ましいとされる。そこで、ワクモの異なる血液摂取状態や发育ステージにおいて、安定した発現量を持つ内在性コントロール遺伝子の候補として、十分な発現強度があり、吸血および飢餓状態の間で有意な発現差がないことを基準に候補を選定した。その結果、7 種のコントロール遺伝子候補を選択してその特徴をより詳細に解析した。さらに、各发育ステージでの発現量を比較して、*elongation factor 1α (ELF1α)*-like 遺伝子と *apolipoporphins-like* 遺伝子の 2 つのコントロール遺伝子が最も適していることが示された。そしてコントロール遺伝子として評価したところ、*ELF1α-like* 遺伝子と *apolipoporphins-like* 遺伝子を用いることで、ATP 合成酵素サブユニット γ -like 遺伝子の発現を正規化することに成功した。以上より、*ELF1α-like* 遺伝子と *apolipoporphins-like* 遺伝子はワクモの内在性コントロール遺伝子としての有用性であることが示唆された。

(3) 種々のワクモ由来分子のワクチン抗原としての評価

前述の RNA-SEQ 解析の結果より、新規の *adipocyte-plasma membrane-associated protein-like* 分子 (Dg-APMAP) が、吸血後のワクモで高発現していることが判明した。そこで、Dg-APMAP 遺伝子の全塩基配列を決定して、ワクモの異なる发育ステージにおける発現を調べ、ワクチン抗原としての可能性を評価した。Dg-APMAP mRNA は、中腸や卵巣で発現し、吸血の状態に関わらず、全ての发育ステージで発現していた。次に Dg-APMAP の細胞外領域を組換えタンパク質として調製して、ニワトリに免疫して調製した免疫血漿をワクモに *in vitro* feeding にて吸血させたところ、吸血を必要とする若ダニと成ダニの生存率が対照群に比べて著しく減少した。この結果は、Dg-APMAP をワクチン接種することで誘導される宿主免疫応答が、養鶏業におけるワクモによる被害を軽減する有効な戦略となり得ることを示唆している。

これまでの研究で、欧州に分布しているワクモに対するワクチン候補として、システインプロテアーゼである Deg-CPR-1 が報告されている。系統樹解析の結果、Deg-CPR-1 は他のダニ類の消化型システインプロテアーゼと近縁であり、ニワトリのカテプシンとは異なるクラスターに分類されることが判明した。日本のワクモ由来 Deg-CPR-1 は、欧州のワクモのものとは比べてアミノ酸置換があるが、ワクチンとしての有効性を示し、これまでの知見と一致した。また

Deg-CPR-1 は、カテプシン L 様酵素活性を示し、*Deg-CPR-1* mRNA は中腸で検出され、吸血を必要とする全発育ステージで発現していた。これらの結果は、中腸の *Deg-CPR-1* が生理的プロセスにおいて重要な機能を持つ可能性を示しており、その発現を阻害することで、*Deg-CPR-1* を用いたワクチンの有効性に寄与する可能性を示している。

ワクモのシステインプロテアーゼとしてこれまでに報告されている 2 つのシステインプロテアーゼ（前述の *Deg-CPR-1* など）とは異なる *Deg-CPR-2* を本研究で同定した。系統樹解析の結果、*Deg-CPR-2* はワクモの他のシステインプロテアーゼとは異なるクラスターに属していた。このクラスターには、マダニのヘモグロビン消化に関与すると考えられているカテプシン L 様プロテアーゼも含まれていた。発現解析の結果、*Deg-CPR-2* は中腸および全ての発育ステージで発現していたが、個々の発育ステージ間で発現量に差があった。調製した組換え *Deg-CPR-2* の酵素活性はシステインプロテアーゼ阻害剤存在下で阻害されたことから、*Deg-CPR-2* はワクモにおいてシステインプロテアーゼとして機能していると考えられた。そして組換え *Deg-CPR-2* を免疫したニワトリの血漿を *in vitro* feeding assay にて吸血させたワクモで、主に第一若ダニの死亡率が増加した。これらのことから、*Deg-CPR-2* はワクモの中腸でのタンパク質消化に寄与しており、ワクモの生理的プロセスに重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに *Deg-CPR-2* を免疫すると第一若ダニの個体数が減少する可能性があり、抗ワクモワクチンの候補抗原となり得ることが示唆された。

さらにワクモの新規シスタチン様分子として *Dg-Cys* を同定した。*Dg-Cys* mRNA は、中腸と卵巣で発現しており、また全発育ステージで検出された。組換え *Dg-Cys* を調製して免疫したニワトリの血漿を *in vitro* feeding assay にて吸血させた若ダニでは、繁殖能および生存率が有意に低下した。

またワクモの銅トランスポーター 1 様分子 (*Dg-Ctr1*) を同定して、そのワクチン抗原としての有効性を評価した。*Dg-Ctr1* mRNA は中腸や卵巣で検出され、また全ての発育ステージで発現しており、フローサイトメトリー解析により *Dg-Ctr1* が細胞膜上に発現していることが示された。そして *Dg-Ctr1* の細胞外領域を組換えタンパク質として作製して免疫したニワトリ由来の血漿を吸血させた若ダニでは、生存率が著しく低下していた。これらの結果は、*Dg-Ctr1* をワクチン抗原として適用することで、農場内の若ダニの個体数を減少させ、養鶏業界におけるワクモによる経済的損失の低減に貢献できることを示している。また前述の *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、単独の免疫血漿と比較して高い殺ダニ効果を示した。以上より、*Dg-Cys* を含む複数の抗原を組み合わせたカクテルワクチンが、ワクモの被害に対する有用な新規防除法となる可能性が示された。

（４）鳥類のダニ種（ワクモ、トリサシダニ、ミナミトリサシダニ）に対する”ユニバーサル”ワクチンの抗原の探索と評価

ワクモ、トリサシダニ、およびミナミトリサシダニなどの鳥由来のダニ種に対する”ユニバーサル”ワクチンの候補抗原として、システインプロテアーゼ (CP) および鉄結合タンパク質であるフェリチン 2 (FER2) を同定した。

鉄結合タンパク質である FER2 は、ワクモの繁殖や生存に重要であり、既にワクモの防除に有用なワクチン候補抗原として報告されており、一部のマダニ類でも”ユニバーサル”ワクチンの抗原候補とされている。トリサシダニやミナミトリサシダニ由来の FER2 を同定してワクモの配列と比較した結果、トリサシダニとミナミトリサシダニの FER2 は重鎖サブユニットのフェロキシンダーゼ中心が保存されていた。また系統樹解析の結果、トリサシダニとミナミトリサシダニの FER2 はワクモや他の節足動物の分泌型フェリチンのクラスターに属していることが示された。ワクモ、トリサシダニ、およびミナミトリサシダニの組換え FER2 (rFER2) は、鉄結合能を示し、各ダニ種由来 rFER2 をニワトリに免疫して調製した免疫血漿はそれぞれ異なるダニ種由来の rFER2 と交差反応した。さらに、ワクモに加えてトリサシダニまたはミナミトリサシダニ由来の rFER2 に対する免疫血漿を吸血させたワクモの死亡率は、対照血漿での死亡率より有意に高かった。このように異なるダニ種由来の抗 rFER2 抗体は、抗ワクモ作用を示した。CP についても同様に、トリサシダニとミナミトリサシダニ由来 CP の推定アミノ酸配列は、ワクモのそれと 75%以上の同一性を示し、系統樹解析でもトリサシダニとミナミトリサシダニの CP はワクモの CP と同じクレードにクラスターを形成していた。また調製した全てのダニ種由来組換え rCP は、カテプシン-L 様酵素活性を示し、各 CP に対する免疫血漿は、異なるダニ種由来 CP と交差反応した。*in vitro* feeding assay でも異なるダニ種由来の抗 CP 抗体は、抗ワクモ作用を示した。以上の結果より、FER2 や CP は”ユニバーサル”ワクチンの候補抗原として利用できる可能性があることが示唆された。今後、鶏を用いた異なるダニ種による攻撃試験の実施など、より詳細な検討が必要であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fujisawa S., Murata S., Isezaki M., Oishi E., Taneno A., Maekawa N., Okagawa T., Konnai S., Ohashi K.	4. 巻 78
2. 論文標題 Transcriptome dynamics of blood-fed and starved poultry red mites, <i>Dermanyssus gallinae</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102156
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2020.102156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Parizi, L.F., Rangel, C.K., Sabadin, G.A., Saggin, B.F., Kio, I., Xavier, M.A., da Silva Matos, R., Camargo-Mathias, M.L., Seixas, A., Konnai, S., Ohashi, K., Githaka, N.W., da Silva Vaz, I.Jr.	4. 巻 11
2. 論文標題 Rhipicephalus microplus cystatin as a potential cross-protective tick vaccine against <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101378
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ttbdis.2020.101378	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yang, Z., Murata, S., Fujisawa, S., Takehara, M., Katakura, K., Hmoon, M.M., Win, S.Y., Bawm, S., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 16
2. 論文標題 Molecular detection and genetic characterization of infectious laryngotracheitis virus in poultry in Myanmar	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Veterinary Research	6. 最初と最後の頁 453
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12917-020-02666-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Murata, S., Machida, Y., Isezaki, M., Maekawa, N., Okagawa, T., Konnai, S., Ohashi K.	4. 巻 17
2. 論文標題 Genetic characterization of a Marek's disease virus strain isolated in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virology Journal	6. 最初と最後の頁 186
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12985-020-01456-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujisawa S, Murata S, Isezaki M, Ariizumi T, Sato T, Oishi E, Taneno A, Maekawa N, Okagawa T, Ichii O, Konnai S, Ohashi K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Characterization of a novel cysteine protease inhibitor from poultry red mites: potential vaccine for chickens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Vaccines (Basel)	6. 最初と最後の頁 1472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/vaccines9121472	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata S, Taniguchi A, Isezaki M, Fujisawa S, Sakai E, Taneno A, Ichii O, Ito T, Maekawa N, Okagawa T, Konnai S, Ohashi K.	4. 巻 28
2. 論文標題 Characterisation of a cysteine protease from poultry red mites and its potential use as a vaccine for chickens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasite	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1051/parasite/2021005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ariizumi T., Murata S., Fujisawa S., Isezaki M., Maekawa N., Okagawa T., Sato T., Oishi E., Taneno A., Konnai S., Ohashi K.	4. 巻 83
2. 論文標題 Selection of reference genes for quantitative PCR analysis in poultry red mite (<i>Dermanyssus gallinae</i>)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 558-565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0677	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sajiki, Y., Konnai, S., Ikenaka, Y., Gulay, K.C.M., Kobayashi, A., Parizi, L.F., Joao, B.C., Watari, K., Fujisawa, S., Okagawa, T., Maekawa, N., Logullo, C., da Silva Vaz, I.Jr., Murata, S., Ohashi, K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Tick saliva-induced programmed death-1 and PD-ligand 1 and its related host immunosuppression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1063
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80251-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujisawa, S., Murata, S., Takehara, M., Aoyama, J., Morita, A., Isezaki, M., Win, S.Y., Ariizumi, T., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Maekawa, N., Okagawa, T., Ichii, O., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 39
2. 論文標題 In vitro characterization of adipocyte plasma membrane-associated protein from poultry red mites, <i>Dermanyssus gallinae</i> , as a vaccine antigen for chickens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 6057-6066
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vaccine.2021.08.104	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata, S., Yamamoto, E., Sakashita, N., Maekawa, N., Okagawa, T., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 100
2. 論文標題 Research Note: Characterization of S-Meq containing the deletion in Meq protein's transactivation domain in a Marek's disease virus strain in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 101461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psj.2021.101461	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 da Silva, R.M., Vital, W.O., Martins, R.S., Moraes, J., Gomes, H., Calixto, C., Konnai, S., Ohashi, K., da Silva Vaz, I. Jr., Logullo, C.	4. 巻 256
2. 論文標題 Differential expression of PEPCK isoforms is correlated to <i>Aedes aegypti</i> oogenesis and embryogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 110618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cbpb.2021.110618	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujisawa, S., Murata, S., Isezaki, M., Ariizumi, T., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Maekawa, N., Okagawa, T., Ichii, O., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 149
2. 論文標題 Characterization of a copper transporter 1 from <i>Dermanyssus gallinae</i> as a vaccine antigen	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasitology	6. 最初と最後の頁 105-115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S0031182021001608	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Della Noce, B., Martins da Silva, R., de Carvalho Uhl, M. V., Konnai, S., Ohashi, K., Calixto, C., Arcanjo, A., de Abreu, L. A., de Carvalho, S. S., da Silva Vaz, I. Jr., Logullo, C.	4. 巻 298
2. 論文標題 Redox imbalance induces remodeling of glucose metabolism in Rhipicephalus microplus embryonic cell line	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 101599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2022.101599	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato, J., Murata, S., Yang, Z., Kaufer, B. B., Fujisawa, S., Seo, H., Maekawa, N., Okagawa, T., Konnai, S., Osterrieder, N., Parcells, M. S., Ohashi, K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Effect of Insertion and Deletion in the Meq Protein Encoded by Highly Oncogenic Marek's Disease Virus on Transactivation Activity and Virulence	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v14020382	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ariizumi, T., Murata, S., Fujisawa, S., Isezaki, M., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Ichii, O., Maekawa, N., Okagawa, T., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 101
2. 論文標題 In vitro evaluation of a cysteine protease from poultry red mites, Demanyssus gallinae, as a vaccine antigen for chickens	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 101638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psj.2021.101638	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujisawa, S., Murata, S., Isezaki, M., Win, S-Y., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Maekawa, N., Okagawa, T., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 102
2. 論文標題 Suppressive modulation of host immune responses by Dermanyssus gallinae infestation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 102532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psj.2023.102532	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Seo, H., Murata, S., Ichii, O., Namba, T., Win, S. Y., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Maekawa, N., Okagawa, T., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 85
2. 論文標題 Analysis of gene expression in poultry red mite, <i>Dermanyssus gallinae&/i>, by RNAscope <i>in situ&/i> hybridization	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 532-535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.22-0544	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Win, S. Y., Murata, S., Fujisawa, S., Seo, H., Sato, J., Motai, Y., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Htun, L. L., Bawm, S., Okagawa, T., Maekawa, N., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Potential of ferritin 2 as an antigen for the development of a universal vaccine for avian mites, poultry red mites, tropical fowl mites, and northern fowl mites	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fvets.2023.1182930	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujisawa, S., Murata, S., Sato, T., Oishi, E., Taneno, A., Konnai, S., Ohashi, K.	4. 巻 95
2. 論文標題 Investigation of peripheral blood responses in chickens infested with <i>Dermanyssus gallinae</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2023.102754	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 有泉拓馬、村田史郎、藤澤宗太郎、伊勢崎政美、前川直也、岡川朋弘、種子野章、大石英司、今内覚、大橋和彦
2. 発表標題 ワクモにおける定量的PCR法確立のための内在性コントロール遺伝子の探索
3. 学会等名 第163回日本獣医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有泉拓馬、村田史郎、藤澤宗太郎、伊勢崎政美、佐藤匠、大石英司、種子野章、市居修、前川直也、岡川朋弘、今内覚、大橋和彦
2. 発表標題 ワクモ(<i>Dermanyssus gallinae</i>)由来システインプロテアーゼの抗ワクモワクチン抗原としての評価
3. 学会等名 第164回日本獣医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤澤宗太郎、村田史郎、伊勢崎政美、佐藤匠、大石英司、種子野章、前川直也、岡川朋弘、今内覚、大橋和彦
2. 発表標題 ワクモ(<i>Dermanyssus gallinae</i>)の吸血に対する宿主免疫応答の解明
3. 学会等名 第164回日本獣医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤澤宗太郎、村田史郎、伊勢崎政美、有泉拓馬、佐藤匠、大石英司、種子野章、前川直也、岡川朋弘、市居修、今内覚、大橋和彦
2. 発表標題 ワクモ(<i>Dermanyssus gallinae</i>)由来シスタチン様分子の抗ワクモワクチン抗原としての評価
3. 学会等名 第165回日本獣医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀬尾光里、村田史郎、Win Shwe Yee、藤澤宗太郎、北條巧、伊勢崎政美、佐藤匠、大石英司、種子野章、市居修、前川直也、岡川朋弘、今内覚、大橋和彦
2. 発表標題 ワクモ由来の2種類のアスパラギン酸ペプチダーゼの性状解析
3. 学会等名 第165回日本獣医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Win Shwe Yee、村田史郎、藤澤宗太郎、瀬尾光里、佐藤純平、佐藤匠、大石英司、種子野章、岡川朋弘、前川直也、今内覚、大橋和彦
2. 発表標題 Characterization of cysteine proteases from avian mites to develop a vaccine with broad efficacy
3. 学会等名 第165回日本獣医学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村田 史郎 (MURATA Shiro) (10579163)	北海道大学・獣医学研究院・助教 (10101)	
研究分担者	今内 覚 (KONNAI Satoru) (40396304)	北海道大学・獣医学研究院・准教授 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------