

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18798

研究課題名(和文)新規ワクモ防除用ワクチンの開発：組換えマレック病ウイルス生ワクチンの応用

研究課題名(英文) Reconstitution of a novel recombinant Marek's disease virus as a vector vaccine against poultry red mites

研究代表者

村田 史郎 (Shiro, Murata)

北海道大学・獣医学研究科・助教

研究者番号：10579163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ワクモ(鳥類の外部寄生虫)による吸血被害は、世界中の養鶏場で深刻な問題となっている。殺虫剤に変わる新たなワクモ防除法として、ワクチンによる防除法開発に取り組んでいる。本研究では、使用しやすいワクチンの作製を目指し、ウイルスベクターの応用を検討した。ウイルスはほぼ全ての鶏に接種されるマレック病弱毒生ワクチンを用いて、ワクチン抗原遺伝子が挿入された組換えウイルスを作製した。組換えウイルス感染細胞では、抗原タンパク質の発現が認められており、新たなワクモ防除用ワクチンとして期待される。

研究成果の概要(英文)：The poultry red mite (PRM), is one of the major hematophagous ectoparasites of poultry farming, and the decreased productivity due to blood-sucking by PRMs is a severe problem for the poultry industry. The use of acaricides often leads to the spread of acaricide-resistant PRMs. Therefore, alternative strategies are required to reduce economic losses in poultry farming. Here, we focus on preventive methods such as vaccination to control PRMs, and we have already identified several vaccine candidates. In order to prepare an easy-to-use anti-PRM vaccine, the recombinant Marek's disease (MD) virus (rMDV) expressing a vaccine antigen was reconstituted. Reconstituted rMDV showed no significant differences in the growth kinetics compared to the parental strain, and the vaccine antigen was expressed in the infected cells. Thus, the rMDV live vaccine expressing a vaccine antigen against PRMs may be applicable as a candidate dual vaccine that provides protection against both PRMs and MD.

研究分野：獣医伝染病学

キーワード：ワクモ 組換えワクチン マレック病 マレック病ウイルス 感染性クローン 組換えウイルス 弱毒生ワクチン

1. 研究開始当初の背景

ワクモ (*Dermanyssus gallinae*) による吸血被害は、現在の養鶏産業における深刻な問題であり、その対策は極めて重要な課題である。ワクモは鳥類の外部寄生虫で、吸血による貧血や産卵率の低下によって生産性の低下をひきおこすことに加え、サルモネラや鶏痘ウイルスなどの病原体伝播への関与も示唆されている。国内外問わず多くの養鶏場がワクモに汚染されており、防除対策にかかる費用も含めると、その被害額は欧州では年間1億3千万€、日本においても60億円以上のぼると試算されている。

ワクモ防除は鶏舎の洗浄や殺虫剤の散布によって行われているが、ワクモが鶏舎内のすき間に潜むことで洗浄や薬剤が行き届かず駆除が困難となっている。加えて、薬剤耐性ワクモの出現も最近では報告されており、現行の対策に変わる新たなワクモ防除法が必要である。そこで、殺虫剤に変わる防除方法として、ワクチンによる防除法開発に注目し、これまでに複数の有用な抗原候補を同定してきた。実際に同定した抗原候補の組換えタンパク質を作製し、免疫した鶏の血液を吸血させたところ、ワクモの死亡率の上昇が観察された。このように、抗ワクモワクチンの開発は殺虫剤に代わる防除法として期待される手法である。

抗ワクモワクチンが開発・実用化された場合、殺虫剤の使用量減少や、殺虫剤よりも長期間の効果を望むことができる。しかしワクモによる被害は成鶏に多いため、ワクチンの実用化に向けても、できる限り長期にわたり免疫(血中抗体価)を維持させる必要があり、追加免疫についても考慮しなければならない。そのため、ワクチン接種に係る鶏や飼養者への負荷・負担増加が予想され、より使用しやすい形態のワクチン開発が望まれる。

2. 研究の目的

本研究では、より使用しやすいワクチンの開発に向けて、マレック病(MD)弱毒生ワクチンに着目した。MDは、MDウイルス(MDV)の感染により悪性リンパ腫を引き起こす疾病で、家禽の監視伝染病の中では毎年最も発生農場数が多く、ほぼ全ての養鶏場でワクチン接種が行われている。そのため、MDVワクチン株に抗ワクモワクチン抗原(DgAg)遺伝子を挿入した組換えMDVを免疫に用いれば、MD予防に加えワクモ防除への効果も期待できる。本研究では、MDVワクチン株をウイルスベクターとして用いることで、接種に係る負担を軽減し、MD予防とワクモ防除を同時に可能にする、より利用しやすいワクチンの作出を目指した。

3. 研究の方法

(1) 本研究ではワクチン抗原候補として、これまでにワクチン効果を確認した抗原、あるいは他グループによって報告された抗原の

中から、システインプロテアーゼであるCathepsin L (CatL) 様タンパク質 (DgCatL) とアスパラギン酸プロテアーゼであるCathepsin D (CatD) 様タンパク質 (DgCatD) の2種類のプロテアーゼを用いた。CatLおよびCatDは、マダニでは血液の消化・分解に関わり、オオタバコガでは虫体の成長に関わることが知られており、その機能を阻害することでワクモの発育への障害が期待できる。また、ワクモにおいてもワクチン抗原としての有用性が報告されている。上記2種DgAg遺伝子をそれぞれpCMV-Tag1ベクターにクローニングし、mycエピトープタグを付加した発現プラスミドを作製した。また各遺伝子共に、酵素活性を失活させるため、活性中心に変異を導入した発現プラスミドを作製した。

(2) MD予防のために使用されるワクチン株は複数知られている。中でも、遺伝子組換え技術によりMDV強毒株から病態発現に必須であるMDVの癌遺伝子(*meq*遺伝子)を欠損させた組換えMDVは、高いワクチン効果が報告されている。そこで本研究では、MDV強毒株であるRB-1B株より*meq*遺伝子を欠損させたMDVをDgAg遺伝子挿入のためのウイルスベクターとして用いた。本研究では、RB-1Bゲノムより*meq*遺伝子が位置する2つのリピート配列(Terminal Repeat Long (TRL), Internal Repeat Long (IRL))よりIRLをノックアウトした感染性クローンプラスミド(pRB-1B_ΔIRL、ベルリン自由大学Dr. Kauferより分与)(図1a)を用いて、TRL領域に残る*meq*遺伝子を*en passant* mutagenesis法により、野生型(wt)または活性中心への変異導入型(mut)DgAg遺伝子と置換した(図1a、pRB-1B_wt/mutDgAg)。さらに、DgAgの発現効率を高める目的で、*meq*遺伝子をwt/mutDgAg遺伝子発現カセットと置換させた感染性クローンプラスミドの作製も行った(図1a、pRB-1B_wt/mutDgAg-cas)。得られたクローンのうち、DgAg遺伝子を持ち、*meq*遺伝子を持たないクローンを制限酵素断片長多型解析(RFLP)により選抜し、PCRおよびシーケンシング、さらにサザンブロッティングにより確認した。

(3) 作製した感染性クローンプラスミドを鶏胎子線維芽細胞(CEF)へリン酸カルシウム法により導入し、組換えMDV(vRB-1B_wtDgAg/wtDgAg-cas, vRB-1B_mutDgAg/mutDgAg-cas)を再構成した。

(4) 再構成に成功した組換えMDVのうち、vRB-1B_mutDgAg/wtDgAgについて、*in vitro*におけるウイルス増殖能をリアルタイムPCRにより、元ウイルス株(vRB-1B_ΔIRL)と比較した。また、DgCatDの遺伝子発現およびタンパク質発現について確認するために、組換えMDV感染細胞を用いて、RT-PCRおよびウェスタンブロッティングを行った。

4. 研究成果

(1) wt/mut*DgAg* 遺伝子を pCMV-Tag1 ベクターにクローニングし、得られた発現プラスミドと MDV 強毒株である RB-1B 株の完全長ゲノムより IRL 領域を欠損させた感染性クローンを用いて、新規組換えワクチンの作製を行った。TRL に位置する *meq* 遺伝子を wt/mut *DgAg* 遺伝子、あるいはその発現カセットと置換させることで、pRB-1B_wt/mutDgAg および pRB-1B_wt/mutDgAg-cas を作製した (図 1a)。得られた感染性クローンプラスミドの *meq* locus への目的遺伝子の挿入について、RFLP によるスクリーニングを行った後、PCR およびサザンブロッティングによる確認を行った (図 1b, c)。PCR は 3 組のプライマー (*meq* 遺伝子の上流及び下流、*meq* 遺伝子内部、*DgAg* 遺伝子内部) を用いて行い、いずれも予想される位置にバンドが認められた (図 1b)。また、プローブとして *meq* または *DgAg* を用いたサザンブロットにおいても、予想されるレーンに特異的なシグナルが認められた。さらに挿入された目的遺伝子は、シーケンス解析によって、予想外の変異が導入されていないことを確認した。*DgCatL* および *DgCatD* 遺伝子いずれにおいても同様の操作を行い、目的とする感染性クローンプラスミドが得られた。

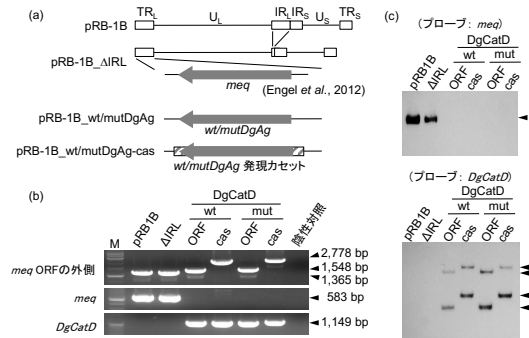


図1. MDV感染性クローンプラスミドの作製
(a) 感染性クローンの模式図。DgAgは野生型 (wt) および変異挿入型 (mut) の挿入、あるいはそれらの発現カセットの挿入を行った。(b) PCRによる遺伝子置換の確認。(c) サザンブロッティングに遺伝子置換の確認。M: 分子量マーカー

(2) 続いて、得られた感染性クローンプラスミドを用いて、組換え MDV の再構成を行った。CEF へのプラスミド導入後、3 回継代を行い、細胞変性効果 (CPE) の有無について観察を行った。その結果、発現カセットを挿入した pRB-1B_wt/mutDgAg-cas 導入 CEF では、*DgCatL* および *DgCatD* 遺伝子いずれにおいても CPE は認められなかった。一方、pRB-1B_wt/mutDgAg を導入した CEF では、*DgCatL* および *DgCatD* 遺伝子いずれにおいても、3 回の継代作業によって、明確な CPE が観察されるようになった (vRB-1B_wt/mutDgAg)。発現カセットを挿入した vRB-1B_wt/mutDgAg-cas が再構成されなかった理由としては、発現カセットの遺伝子サイズが大きく、*meq* locus 近傍の遺伝子発現に影響を及ぼしたか、あるいは CMV プロモーターの作用が高く、MDV の再構成に必要なウイルスタンパク質の発現

が不十分であった可能性が考えられた。

(3) 再構成された vRB-1B_wt/mutDgAg のうち、wt/mut*DgCatD* 遺伝子を挿入した vRB-1B_wt/mutDgCatD について、遺伝子置換による組換え MDV ゲノムの安定性への影響を調べるために、感染細胞より DNA を抽出し、3 組のプライマー (*meq* 遺伝子の上流及び下流、*meq* 遺伝子内部、*DgCatD* 遺伝子内部) を用いて PCR を行った。その結果、vRB-1B_wt/mutDgCatD では、*meq* 遺伝子は検出されず、*DgCatD* 遺伝子が検出され、挿入遺伝子が安定してウイルスゲノム中に維持されていた。

次に、vRB-1B_wt/mutDgCatD のウイルス増殖能を元ウイルス株である vRB-1B_ΔIRL と比較した。各組換え MDV を CEF に接種した後、リアルタイム PCR により、5 日間のウイルス量の変化を観察した。3 日目まではばらつきが認められたものの、4 日、5 日目ではいずれの組換え MDV においてもウイルス量に大きな差は認められなかった (図 2a)。そのため作製した vRB-1B_wt/mutDgCatD は、vRB-1B_ΔIRL と概ね同様の増殖能を示すことが示唆された。また、vRB-1B_ΔIRL は由来となる RB-1B 株と増殖率に差がないことが報告されているため、本研究によって得られた vRB-1B_wt/mutDgCatD は、由来となっている RB-1B 株の増殖能とも大きな差は無いと考えられた。

作製した組換え MDV による wt/mut*DgCatD* の発現を確認した。各組換え MDV 感染細胞より RNA を抽出し RT-PCR を行ったところ、vRB-1B_wt/mutDgCatD 感染細胞において、wt/mut*DgCatD* mRNA の発現が認められた。最後に、組換え MDV 感染細胞を用いてウェスタンブロッティングを行ったところ、予想される位置にシグナルが認められ、*DgCatD* 遺伝子内の活性中心における変異の有無にかかわらず、*DgCatD* が感染細胞で発現していることが確認された。

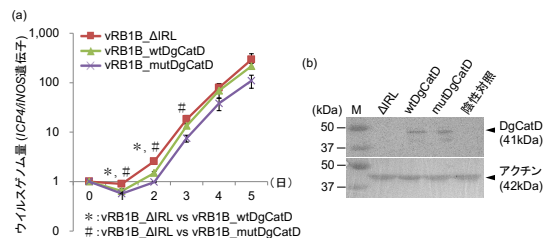


図2 組換えMDVの性状
(a) 各組換えMDVの増殖能をリアルタイムPCRにより解析した。1-3日目までは各組換えMDV間で差が認められたが、4日目と5日目では差は認められなかった。値は、ICP4遺伝子の測定値をINOS遺伝子 (内部標準) により標準化し、各組換えMDVの0日目として、各日数のウイルスゲノム量を相対値として示した。*、#: $p < 0.05$ 。(b) 組換えMDV感染細胞におけるDgCatDをウェスタンブロッティングにより解析した。上段: 抗myc抗体を用いたDgCatDの検出を行った。下段: ローディングコントロールとしてアクチンを検出した。M: 分子量マーカー

以上の結果より、本研究によって構築した手法で作製される組換え MDV は、*DgAg* 遺伝子を安定してウイルスゲノム中に保持し、組換えによる遺伝子置換はウイルス増殖能に影響を与えず、感染細胞において *DgAg* を安定して発現すると考えられた。今後は得られた組換え MDV を用いて、ニワトリへの免疫を行

い、MD への予防効果に加えて、ワクモの防除効果を詳細に解析することで、その有用性を明らかにする必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 20 件)

- ① Sajiki, Y., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Maekawa, N., Goto, S., Ikebuchi, R., Nagata, R., Kawaji, S., Kagawa, Y., Yamada, S., Kato, Y., Nakajima, C., Suzuki, Y., Murata, S., Mori, Y. and Ohashi, K. 2018. Prostaglandin E2 induction suppresses the Th1 immune responses in cattle with Johne's disease. *Infect Immun.* pii: IAI.00910-17. doi: 10.1128/IAI.00910-17. In press. 査読有り.
- ② Machida, Y., Murata, S., Matsuyama-Kato, A., Isezaki, M., Taneno, A., Sakai, E., Konnai, S. and Ohashi, K. 2017. Isolation and purification of Gallid herpesvirus 2 strains currently distributed in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 79: 115-122. doi:10.1292/jvms.16-0329. 査読有り.
- ③ Konnai, S., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Immune exhaustion during chronic infections in cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 79: 1-5. doi: 10.1292/jvms.16-0354. 査読有り.
- ④ Nishimori, A., Konnai, S., Okagawa, T., Maekawa, N., Ikebuchi, R., Goto, S., Sajiki, Y., Suzuki, Y., Kohara, J., Ogasawara, S., Kato, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. In vitro and in vivo antiviral activity of an anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) rat-bovine chimeric antibody against bovine leukemia virus infection. *PLoS One.* 12: e0174916. doi: 10.1371/journal.pone.0174916. 査読有り.
- ⑤ Goto, S., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Maekawa, N., Gondaira, S., Higuchi, H., Koiwa, M., Tajima, M., Kohara, J., Ogasawara, S., Kato, Y., Suzuki, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Increase of cells expressing PD-1 and PD-L1 and enhancement of IFN- γ production via PD-1/PD-L1 blockade in bovine mycoplasmosis. *Inflamm. Dis.* 5:355-363. doi: 10.1002/iid3.173. 査読有り.
- ⑥ Okagawa, T., Konnai, S., Nishimori, A., Maekawa, N., Ikebuchi, R., Goto, S., Nakajima, C., Kohara, J., Ogasawara, S., Kato, Y., Suzuki, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Anti-Bovine Programmed Death-1 Rat-Bovine Chimeric Antibody for Immunotherapy of Bovine Leukemia Virus Infection in Cattle. *Front Immunol.* 8: 650. doi: 10.3389/fimmu.2017.00650. 査読有り.
- ⑦ Nishimori, A., Konnai, S., Okagawa, T., Maekawa, N., Goto, S., Ikebuchi, R., Nakahara, A., Chiba, Y., Ikeda, M., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Identification of an atypical enzootic bovine leukosis in Japan by using a novel classification of bovine leukemia based on immunophenotypic analysis. *Clin. Vaccine Immunol.* CVI.00067-17. doi: 10.1128/CVI.00067-17. 査読有り.
- ⑧ Ochirkhuu, N., Konnai, S., Odbileg, R., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Molecular Epidemiological Survey and Genetic Characterization of Anaplasma Species in Mongolian Livestock. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 17:539-549. doi:10.1089/vbz.2017.2111. 査読有り.
- ⑨ Maekawa, N., Konnai, S., Takagi, S., Kagawa, Y., Okagawa, T., Nishimori, A., Ikebuchi, R., Izumi, Y., Deguchi, T., Nakajima, C., Kato, Y., Yamamoto, K., Uemura, H., Suzuki, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. A canine chimeric monoclonal antibody targeting PD-L1 and its clinical efficacy in canine oral malignant melanoma or undifferentiated sarcoma. *Sci. Rep.* 7:8951. doi: 10.1038/s41598-017-09444-2. 査読有り.
- ⑩ Maekawa, N., Konnai, S., Balbin, M. M., Mingala, C. N., Gicana, K. R. B., Bernardo, F. A. E. M., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Molecular detection and phylogenetic analysis of Ehrlichia canis in a Philippine dog. *Ticks Tick Borne Dis.* 9:266-269. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.09.012. 査読有り.
- ⑪ Sharav, T., Konnai, S., Ochirkhuu, N., Ts, E. O., Mekata, H., Sakoda, Y., Uemura, T., Murata, S., Chultemdorj, T. and Ohashi, K. 2017. Detection and molecular characterization of equine infectious anemia virus in Mongolian horses. *J Vet Med Sci.* 79:1884-1888. doi: 10.1292/jvms.17-0202. In press. 査読有り.
- ⑫ Ochirkhuu, N., Konnai, S., Odbileg, R., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Molecular epidemiological survey and genetic characterization of ovine gammaherpesvirus-2 in Mongolian livestock. *J Vet Med Sci.* 79:2040-2042. doi: 10.1292/jvms.17-

0203. In press. 査読有り.
- ⑬ Sajiki, Y., Konnai, S., Nishimori, A., Okagawa, T., Maekawa, N., Goto, S., Nagano, M., Kohara, J., Kitano, N., Takahashi, T., Tajima, M., Mekata, H., Horii, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load. *J. Vet. Med. Sci.* 79:2036-2039. doi: 10.1292/jvms.17-0391. In press. 査読有り.
- ⑭ Toyomane, K., Konnai, S., Niwa, A., Githaka, N., Isezaki, M., Yamada, S., Ito, T., Takano, A., Ando, S., Kawabata, H., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Identification and the preliminary in vitro characterization of IRIS homologue from salivary glands of *Ixodes persulcatus* Schulze. *Ticks Tick Borne Dis.* 7: 119-125. doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.09.006. 査読有り.
- ⑮ Ochirkhuu, N., Konnai, S., Odbileg, R., Nishimori, A., Okagawa, T., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Detection of bovine leukemia virus and identification of its genotype in Mongolian cattle. *Arch Virol.* 161: 985-991. doi: 10.1007/s00705-015-2676-8. 査読有り.
- ⑯ Nishimori, A., Konnai, S., Ikebuchi, R., Okagawa, T., Nakahara, A., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Direct polymerase chain reaction from blood and tissue samples for rapid diagnosis of bovine leukemia virus infection. *J. Vet. Med. Sci.* 78: 791-796. doi: 10.1292/jvms.15-0577. 査読有り.
- ⑰ Ohira, K., Nakahara, A., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Maekawa, N., Ikebuchi, R., Kohara, J., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Bovine leukemia virus reduces anti-viral cytokine activities and NK cytotoxicity by inducing TGF- β secretion from regulatory T cells. *Immun. Inflamm. Dis.* 4: 52-63. doi: 10.1002/iid3.93. 査読有り.
- ⑱ Ochirkhuu, N., Konnai, S., Odbileg, R., Odzaya, B., Gansukh, S., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Molecular detection and characterization of bovine viral diarrhea virus in Mongolian cattle and yaks. *Arch Virol.* 161: 2279-2283. doi: 10.1007/s00705-016-2890-z. 査読有り.
- ⑲ Maekawa, N., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Ikebuchi, R., Izumi, Y., Takagi, S., Kagawa, Y., Nakajima, C., Suzuki, Y., Kato, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Immunohistochemical Analysis of PD-L1 Expression in Canine Malignant Cancers and PD-1 Expression on Lymphocytes in Canine Oral Melanoma. *PLoS One.* 11: e0157176. doi: 10.1371/journal.pone.0157176. 査読有り.
- ⑳ Okagawa, T., Konnai, S., Deringer, J. R., Ueti, M. W., Scoles, G. A., Murata, S., Ohashi, K. and Brown, W. C. 2016. Cooperation of PD-1 and LAG-3 Contributes to T-Cell Exhaustion in *Anaplasma marginale*-Infected Cattle. *Infect. Immun.* 84: 2779-2790. doi: 10.1128/IAI.00278-16. 査読有り.

〔学会発表〕(計 15 件)

- ① 村田史郎、伊勢崎政美、谷口綾香、北條巧、種子野章、酒井英史、宇野有紀子、市居修、伊東拓也、今内覚、大橋和彦. ワクモ (*Dermanysus gallinae*) 由来カテプシンL様タンパク質の性状解析とワクチン抗原としての評価. 第63回寄生虫/衛生動物学会 北日本支部合同大会. 2017年10月21日.
- ② 青山珠里愛、村田史郎、伊勢崎政美、種子野章、酒井英史、今内覚、大橋和彦. マレック病ウイルス弱毒株を用いた新規抗ワクモワクチン開発に向けた基礎研究. 第160回日本獣医学会学術集会. 鹿児島大学(鹿児島市). 2017年9月13-15日.
- ③ 村田史郎、種子野章、酒井英史、町田柚香、松山あゆ美、伊勢崎政美、今内覚、大橋和彦. 日本に分布するマレック病ウイルス野外株の病原性の検討. 第160回日本獣医学会学術集会. 鹿児島大学(鹿児島市). 2017年9月13-15日.
- ④ Murata, S., Kaufer, B. B., Osterrieder, N., Isezaki, M., Konnai, S. and Ohashi, K. Enhanced immune responses after vaccination with a gallid alphaherpesvirus 2 (Marek's disease virus, MDV) expressing PD-1. 42nd International Herpesvirus Workshop. Ghent, Belgium. July 29-August 2, 2017.
- ⑤ 村田史郎、町田柚香、種子野章、酒井英史、松山あゆ美、伊勢崎政美、今内覚、大橋和彦. 日本に分布するマレック病ウイルスの分離と性状解析. 平成29年度鶏病研究会北海道支部技術検討会. 北海道獣医師会館(札幌市). 2017年6月16日.
- ⑥ 越智晶絵、今内覚、伊東拓也、川端寛樹、高野愛、安藤秀二、村田史郎、大橋和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来 sialostatinL2 の機能解析. 第159回日本獣医学会学術集会. 日本大学生物資源科学部(藤沢市). 2016年9月6-8日.

- ⑦ 伊勢崎政美、村田史郎、酒井英史、矢吹卓也、種子野章、市居修、伊東拓也、今内覚、大橋和彦. 抗ワクモ (*Dermanyssus gallinae*) ワクチン開発に向けたワクモ由来フェリチン2の性状解析. 第159回日本獣医学会学術集会. 日本大学生物資源科学部 (藤沢市). 2016年9月6-8日.
- ⑧ 村田史郎、町田柚香、伊勢崎政美、今内覚、大橋和彦. マレック病ウイルス日本分離株の全ゲノム解析. 第159回日本獣医学会学術集会. 日本大学生物資源科学部 (藤沢市). 2016年9月6-8日.
- ⑨ Nishimori, A., Konnai, S., Okagawa, T., Maekawa, N., Goto, S., Murata, S., Ikebuchi, R. and Ohashi, K. Identification of an atypical enzootic bovine leukosis in Japan by using a novel classification of bovine leukemia based on immunophenotypic analysis. The 11th International Veterinary Immunology Symposium. Gold Coast, Australia. August 16-19, 2016.
- ⑩ Maekawa, N., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Ikebuchi, R. Takagi, S., Kagawa, Y., Murata, S. and Ohashi, K. Expression of canine immune checkpoint molecules PD-1/PD-L1 and the therapeutic potential of anti-PD-L1 antibody in canine malignant cancers. The 11th International Veterinary Immunology Symposium. Gold Coast, Australia. August 16-19, 2016.
- ⑪ Okagawa, T., Konnai, S., Deringer, JR., Ueti, M. W., Scoles, G. A., Murata, S., Ohashi, K. and Brown, W. C. Cooperation of PD-1 and LAG-3 contributes to T-cell exhaustion in *Anaplasma marginale*-infected cattle. The 11th International Veterinary Immunology Symposium. Gold Coast, Australia. August 16-19, 2016.
- ⑫ Ohira, K., Goto, S., Nakahara, A., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Maekawa, N., Murata, S. and Ohashi K. Bovine leukemia virus reduces anti-viral activities and NK cytotoxicity by inducing TGF- β secretion from regulatory T cells. The 11th International Veterinary Immunology Symposium. Gold Coast, Australia. August 16-19, 2016.
- ⑬ Murata, S., Machida, Y., Isezaki, M., Konnai, S. and Ohashi, K. Sequence analysis of a Marek's disease virus strain isolated in Japan. 11th International Symposium on Marek's Disease and Avian Herpesviruses. Tours, France. July 6-9, 2016.
- ⑭ Okagawa, T., Konnai, S., Deringer, JR., Ueti, M. W., Scoles, G. A., Murata, S., and Ohashi, K. and Brown, W. C. Immunoinhibitory receptors PD-1 and LAG-3 contribute to T-cell exhaustion during *Anaplasma marginale* infection. 28th Meeting of the American Society for Rickettsiology. Big Sky, USA. June 14, 2016.
- ⑮ 村田史郎、伊勢崎政美、酒井英史、矢吹卓也、種子野章、市居修、伊東拓也、今内覚、大橋和彦. 抗ワクモ (*Dermanyssus gallinae*) ワクチン開発に向けたワクモ由来フェリチン2の性状解析. 平成28年度 鶏病研究会北海道支部技術検討会. 北海道獣医師会館 (札幌市). 2016年6月10日.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 史郎 (MURATA, Shiro)
北海道大学・大学院獣医学研究院・助教
研究者番号：10579163

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者 なし