
家禽の吸血性外部寄生虫ワクモに由来する 鶏免疫応答調節因子の解明

北海道大学大学院獣医学研究院・准教授 村田 史郎

■ 目的

ワクモ(鳥類の外部寄生虫)による吸血は鶏に産卵率の低下等を引き起こし、世界中の養鶏場で問題となっている。現在、ワクモの防除には殺虫剤が使用されているが、薬剤耐性ワクモの増加がその防除を困難にさせている。加えて、ワクモによる重度な吸血は鶏に免疫抑制を引き起こす可能性も報告されている。そこで本研究では、新規ワクモ防除法開発への知見の提供に向け、ワクモの吸血が宿主免疫応答に及ぼす影響を検討するため、吸血時に宿主への注入が想定され、免疫応答の調節への関与が考えられる、translationally controlled tumor protein(TCTP)、cysteine protease(CP)、group 7 mite allergen(MA)を候補分子として、各組換えタンパク質のニワトリマクロファージ様細胞株(HD-11)への影響を評価した。

■ 方法

まず、ワクモにおける TCTP、CP、MA を RNA シーケンス解析データより抽出した。TCTP および CP 遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)の遺伝子配列は GenBank 登録データを参照し、MA 遺伝子は 5'-RACE および 3'-RACE 法により ORF の配列を決定した。大腸菌発現系を用いて各組換えタンパク質を作製し、CP および MA についてはウェスタンブロット法によりワクモ汚染農場由来の鶏血清との反応性(暴露の有無)を検討した。宿主免疫応答への影響を評価するため、HD-11 の培養液中に各組換えタンパク質を添加し、24 時間後に回収した細胞における各免疫関連因子の遺伝子発現量を解析した。陰性対照として熱処理を行った各組換えタンパク質を用いた。

■ 結果および考察

RNA-seq 解析データより、他種寄生虫において免疫応答への関与が報告されている TCTP、CP、MA を候補分子として抽出した。大腸菌発現系を用いて作製した組換え CP および MA とワクモ汚染農場由来鶏血清との反応性を検証することで鶏への暴露の有無について検討したところ、組換え CP および MA はいずれも鶏血清との反応性を示し、暴露型抗原であることが確認された。なお、TCTP はマダニでは暴露型抗原であることが示唆されているが、ワクモ TCTP については汚染農場由来鶏血清との反応性を示さないことが報告されている。次に、組換え TCTP、CP および MA による HD-11 への影響について検討を行った。炎症性サイトカインとして IFN- γ 、抑制性サイトカインとして IL-10、M2 マクロファージのマーカとして IRF4 および Arg2、免疫抑制因子である PD-L1 について、遺伝子発現量の変化を解析した結果、TCTP は IFN- γ 、IL-10 および PD-L1 の発現を亢進させた。一方、CP および MA はいずれの因子の発現も変化させなかった。以上より、TCTP はニワトリマクロファージによる免疫関連因子の発現を変化させる可能性が示された。

■ 結語

ワクモによる重度な吸血は、生産性の低下に加え、養鶏場における感染症制御への影響が懸念される。本研究により、TCTP がニワトリマクロファージに対して、その機能を調節する可能性が示された。そのため TCTP の機能阻害は、ワクモ防除に加え、感染症予防用ワクチンの効果改善にも効果をもたらす分子標的となる可能性が考えられる。新たなワクモ防除法開発に向けた有用な知見を提供するためにも、TCTP を含めた、ワクモによる宿主免疫応答の調節機構のさらなる解明が求められる。