

マダニ唾液が免疫チェックポイント因子の発現を誘導

～マダニ媒介性病原体の伝播機序の解明に期待～

ポイント

- ・マダニの唾液が、免疫チェックポイント因子 PD-1/PD-L1 発現を誘導することを発見。
- ・マダニの唾液が、PD-1/PD-L1 経路を介して宿主の T 細胞応答を抑制することを証明。
- ・マダニの唾液は高濃度の PGE₂ を含んでおり、PD-L1 発現誘導に関与することを示唆。

概要

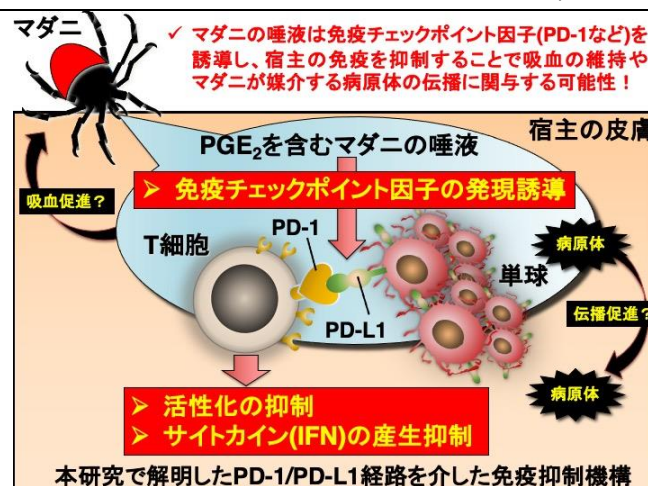
北海道大学大学院獣医学研究院，ブラジル連邦共和国のリオグランデスール連邦大学，リオデジヤネイロ連邦大学による国際共同研究グループ(代表：今内 寛准教授)は，マダニの一種であるオウシマダニ (*Rhipicephalus microplus*) が，吸血時に宿主の免疫応答を抑制する新たな機序を解明しました。

オウシマダニは，主にウシに寄生する一宿主性のマダニであり，亜熱帯及び熱帯地域を中心として世界的に分布しています。吸血被害だけでなくバベシア症^{*1} やアナプラズマ症^{*2} など様々なマダニ媒介性感染症を伝播し，畜産の生産に深刻な被害を与えています。現在，殺ダニ剤を用いた制御法が主流であるものの，殺ダニ剤に抵抗を持ったオウシマダニの出現等により新規制御法の確立が強く求められています。

本研究では，免疫チェックポイント因子である PD-1 及び PD-L1^{*3} に着目して，オウシマダニ由来唾液が引き起こす免疫抑制との関連を解析しました。まず，試験管内 (*in vitro*) においてウシの免疫細胞とオウシマダニ由来の唾液を培養したところ，PD-1 及び PD-L1 の発現が誘導されることを発見しました。さらに解析した結果，マダニの唾液が T 細胞の活性化及びサイトカインの産生を抑制すること，抗 PD-L1 抗体を用いて PD-1/PD-L1 経路を阻害するとマダニの唾液によるサイトカイン産生の抑制が観察されなくなることを明らかにしました。また，マダニ唾液を性状解析した結果，免疫チェックポイント因子の発現上昇に関与することが知られている生理活性物質プロスタグランジン E₂ (PGE₂)^{*4} が高濃度に含まれていることが明らかとなりました。

今回のオウシマダニの唾液の免疫学的解析により，マダニが PD-1/PD-L1 経路を介して宿主の免疫応答を抑制していることを証明した初めての研究であり，本研究で得られた知見は，マダニ媒介性病原体の伝播機序の解明やマダニに対する新規制御法への応用が期待されます。

なお，本研究成果は 2021 年 1 月 13 日 (水) 公開の Scientific Reports 誌に掲載されました。



【背景】

オウシマダニは、主にウシに寄生する一宿主性のマダニであり、亜熱帯及び熱帯地域を中心として世界的に分布しています。かつて日本の九州地方にも分布していましたが、農林水産省の対策事業により撲滅に成功しています。しかし、日本以外の国々においては寄生されたウシにおける増体率の減少や乳量の低下に加えて、オウシマダニはバベシア症やアナプラズマ症を媒介するため、畜産生産に甚大な被害の発生が続いています。オウシマダニに関連するブラジルにおける経済損失^{*5}は年間 3,200 億円以上と推定されています。現在、オウシマダニの制御法として殺ダニ剤の使用が主流であるものの、食品への薬剤残留問題が問題となっています。また、殺ダニ剤に抵抗を持ったオウシマダニの出現も問題となっており、2017 年の段階で中南米の国々を中心に世界 24 か国から抵抗性を持つオウシマダニの出現が報告されています。

このような現状により、殺ダニ剤に頼らない新規制御法の確立が強く望まれています。研究グループでは、マダニの唾液が持つ免疫抑制効果に着目して研究を進めてきました。マダニが吸血する際に宿主に分泌する唾液中には、数多くの免疫抑制物質が含まれています。マダニの長期間続く吸血を維持するために唾液の免疫抑制効果は重要な役割を果たしており、その詳細な免疫抑制機序の解明は、新規制御法を樹立する上で非常に有益な知見となります。本研究では、がんや感染症分野で盛んに研究されている免疫チェックポイント因子を介した免疫抑制とオウシマダニ由来唾液の関連を調べました。

【研究手法】

オウシマダニ由来唾液及びウシの血液を材料に、免疫学的な実験手法によりオウシマダニ由来唾液による PD-1/PD-L1 発現の変化、オウシマダニ由来唾液がウシの免疫応答に与える影響を解析しました。また、免疫学的、生化学的手法を用いて、オウシマダニ由来唾液中の PGE₂ 量の定量、PGE₂ が PD-L1 発現に与える影響を解析しました。さらに、オウシマダニ付着部位の皮膚組織を用いて PD-L1 及び PGE₂ の発現解析を行いました(図 2)。

【研究成果】

試験管内での解析により、オウシマダニの唾液が T 細胞の活性化やインターフェロン- γ (IFN- γ)^{*6} 産生を抑制することが確認されました。一方で、同唾液がウシの T 細胞上の PD-1 の発現や単球上の PD-L1 の発現を誘導することも初めて示されました。そこで、抗 PD-L1 抗体を用いて PD-1/PD-L1 経路を阻害すると、オウシマダニ由来唾液による IFN- γ 産生の抑制効果が認められないことが確認されました。このことは、オウシマダニ由来唾液が PD-1/PD-L1 経路を介して宿主の免疫応答を抑制していることが示唆するものです(図 1)。さらに、オウシマダニ由来唾液による免疫チェックポイント因子の発現誘導機序の解析を行いました。免疫学的及び生化学的解析の結果、オウシマダニ由来唾液に高濃度の PGE₂ が含まれていることが確認されました。これまでの我々の研究において、PGE₂ は PD-L1 の発現を誘導する因子の一つであることが確認されています。そこでオウシマダニ付着部位の免疫組織化学染色法を行ったところ非付着部位と比較してマダニ付着部位では PD-L1 及び PGE₂ の発現が亢進していることが示されました。今後、オウシマダニ由来唾液中の PGE₂ が PD-1/PD-L1 発現に与える影響を直接的に評価していく予定です。

【今後への期待】

本研究は、マダニ由来唾液による免疫回避に PD-1/PD-L1 経路が関与していることを証明した世界で初めての報告になります。オウシマダニにおける PGE₂ 合成経路の阻害が、吸血、産卵及び病原体伝

播に与える影響等を詳細に解析することで新規制御法としての可能性を評価していきたいと思ひます。また、同様の作用は他のマダニでも推測され、最近問題となっている様々なマダニ媒介疾病の病原体の伝播機序の解明に寄与することが期待されます。

【謝辞】

本研究成果の一部は文部科学省科学研究費助成事業、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター・イノベーション創出強化研究推進事業並びに革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）及び国立研究開発法人日本医療研究開発機構 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業(ダニ媒介性細菌感染症の総合的な対策に向けた研究 JP19fk0108068)の支援の下で行われました。

論文情報

論文名 Tick saliva-induced programmed death-1 and PD-ligand 1 and its related host immunosuppression (オウシマダニ由来唾液による PD-1/PD-L1 発現の誘導及び PD-1/PD-L1 経路を介した免疫抑制効果の解明)

著者名 佐治木大和¹, 今内覚¹, 池中良徳¹, Kevin Christian Montecillo Gulay¹, 小林篤史¹, Luís Fernando Parizi², Benvindo Capela João², 渡 慧¹, 岡川朋弘¹, 前川直也¹, 藤澤宗太郎¹, Carlos Logullo³, Itabajara da Silva Vaz Jr², 村田史郎¹, 大橋和彦¹ (¹北海道大学大学院獣医学研究院, ²リオグランデドスール連邦大学, ³リオデジャネイロ連邦大学)

雑誌名 Scientific Reports

DOI 10.1038/s41598-020-80251-y

公表日 日本時間 2021 年 1 月 13 日 (水) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院獣医学研究院 准教授 今内 覚 (こんないさとる)

T E L 011-706-5215 F A X 011-706-5217 メール konnai@vetmed.hokudai.ac.jp

U R L <https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2162 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimuhokudai.ac.jp

【参考図】



図1. オウシマダニ (産卵中)

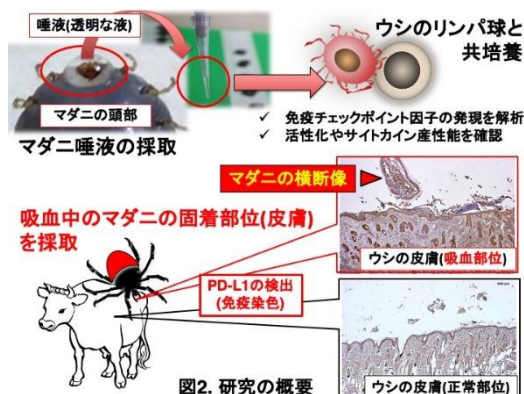


図2. 研究の概要

【用語解説】

*1 バベシア症 … バベシア原虫感染により起こる。バベシア原虫の中でも、*Babesia bigemina* 及び *Babesia bovis* はオウシマダニによって媒介される。症状は、発熱、貧血、血色素尿などで、死に至ることもある。

*2 アナプラズマ症 … リケッチアの一種アナプラズマ(*Anaplasma marginale*) 感染により起こる。オウシマダニなどによって媒介される。症状は、発熱、貧血、黄疸などで、死に至ることもある。

*3 PD-1 及び PD-L1 … 免疫チェックポイント因子として知られるタンパク質で、がんや感染症の分野で盛んに研究されている。がん細胞や病原体が、宿主の免疫を回避する機構の一つとして PD-1/PD-L1 経路を利用している。PD-1 (programmed death-1) は T 細胞上に発現する受容体であり、そのリガンドである PD-L1 (programmed death-ligand 1) というタンパク質が結びつくと、T 細胞の機能が抑制されてしまう。

*4 プロスタグランジン E_2 (PGE_2) … アラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ等の酵素を介して合成される生理活性物質。炎症等に関与する一方で、免疫抑制作用を有することも知られている。近年、免疫チェックポイント因子の発現誘導に関与することが明らかにされている。

*5 ブラジルにおける経済損失 … 2014 年に発表された論文 (参考論文 1) において、ブラジルにおけるオウシマダニに関連した経済損失が年間 32.4 億 US ドルと推定されている。

参考論文 1 : Grisi L, Leite RC, Martins JR, Barros AT, Andreotti R, Cançado PH, León AA, Pereira JB, Villela HS. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23: 150–156.

*6 インターフェロン- γ (IFN- γ) … サイトカインの一種。活性化した T 細胞などから産生され、異物や病原体の排除に重要な役割を持つ。