

衛生動物学研究センター

教授：嘉糠 洋陸 衛生動物学・寄生虫学
准教授：石渡 賢治 寄生虫感染と粘膜免疫
講師：櫻井 達也 原虫学

教育・研究概要

I. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスのマダニ内伝播メカニズムの解析

病原体媒介節足動物であるマダニは、ライム病、日本紅斑熱、SFTS などの重篤な疾患を発症させる病原体を媒介する。我々は、マダニの病原体伝播メカニズムを解析するため、マダニ媒介性ウイルスである SFTSV の野外棲息マダニにおける感染状況の把握と、SFTSV のマダニ生活環における動態の解明を試みた。日本紅斑熱流行地域であり、SFTS 死亡患者発生地域である山林地帯(20km 四方, 西日本) 15ヶ所に定点を設け、Flagging 法によるマダニ採取を3年間(2013~2015年)にわたり計4回実施した。採取したマダニ類は16SrRNA 遺伝子による種の特異性、並びに SFTSV・日本紅斑熱リケッチア遺伝子の RT-PCR 法による検出に供した。その結果、日本優占種であるフタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*)、キチマダニ (*H. flava*)、タカサゴチマダニ (*H. formosensis*)、ヤマアラシチマダニ (*H. hystrix*) の4種から SFTSV 遺伝子断片が検出された。本地域のマダニにおける SFTSV・日本紅斑熱リケッチア遺伝子陽性率は9%~20%で推移し、全てのマダニ発育ステージ(幼・若・成)で検出された。SFTSV のマダニ感染経路は野生動物をレゼルボアとした経路と考えられているが、孵化後の未吸血の幼ダニからも SFTSV 遺伝子を検出したことから(陽性率8.6%, n=173)、垂直感染経路の存在が示唆された。また、野外採取した幼ダニを実験室(ラットを宿主として)にて1世代継代した後、孵化した幼ダニのウイルス遺伝子を検出した結果、およそ10%の幼ダニから検出された。これらの結果は、SFTSV はマダニの病原体排除機構を逃れ長期にわたり感染することで、レゼルボアを介した感染に限らず、親ダニから子ダニへの垂直感染経路をも利用して維持されることを示すものである。

II. 中間宿主甲虫の小形条虫に対する感染コンピテンシー

小形条虫や縮小条虫、瓜実条虫などの条虫は、その生活環に中間宿主として甲虫、ノミ、シラミ、ア

リなどの節足動物を必要とする。いずれの場合も、節足動物が虫卵を経口で取り込むことで、孵化した六鉤幼虫が体腔内で擬嚢尾虫となり、ヒトやイヌ、ネコなどの終宿主に中間宿主ごと捕食される機会を待つ。進化的な起源は同一と推測されるこの特殊な生活環と感染戦略は、節足動物と条虫の間の相互作用が繊りなす、適切なバランスの上に成立している。これらの条虫では、昆虫の体内で六鉤幼虫が中腸壁を通過した後、擬嚢尾虫(シスチセルコイド)に成長し終宿主への感染性を獲得する。擬嚢尾虫は、昆虫の体腔から排除されることなく、長期間にわたり寄生することが可能であるため、中間宿主と条虫の間の相互作用は皆無か、またはその貢献度は軽微であると考えられていた。

条虫感染時の中間宿主昆虫における相互作用の有無を明らかにするため、甲虫目昆虫コクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*) を中間宿主とした小形条虫 (*Hymenolepis nana*) 感染実験系において、逆遺伝学的アプローチにより条虫感染に関与する中間宿主側遺伝子を探索した。この昆虫はゲノム解読が終了していることに加え、RNA 干渉 (RNAi) が極めて鋭敏に作用する生物として知られている。小形条虫感染時に腸特異的に発現変動する遺伝子群を RNAseq により網羅的に解析したところ、抗菌ペプチド等の発現上昇が明らかになった。自然免疫経路および関連するシグナル伝達経路を構成する98個の遺伝子について、それぞれ二本鎖 RNA インジェクション法によってコクヌストモドキに RNAi を誘導し、小形条虫感染後の擬嚢尾虫数をもとに解析を実施した。その結果、自然免疫応答のコンポーネントである Toll 経路を阻害すると、擬嚢尾虫感染数の増加が認められた。これらの結果から、中間宿主の小形条虫感染に対するコンピテンシーとそれを制御するシグナル伝達経路の存在が示唆された。甲虫とそれに感染する条虫のモデル系の解析から明らかになった。

「点検・評価」

本センターは、2014 年秋に先端医学推進拠点群のひとつとしてその設置が認められた。2015 年に嘉糠洋陸教授がセンター長に就任し、その活動を本格化した。2012 年末にマダニ媒介性ウイルスによる SFTS の土着、2014 年秋には約70年振りの蚊媒介性デング熱の国内流行が判明し、節足動物媒介性感染症の重要性が一気に認知されたとはほぼ同じくして、本邦で他に類を見ない専門研究機関を本学が率先して設けたことは、学祖の脚気研究にまで遡る、

本学の子防医学重視の潮流に沿うものである。本センターは学内横断的組織であり、主に熱帯医学講座および実験動物研究施設の教員や研究補助員等が参画している。学内および学外との共同研究推進に重きを置き、特に国際ネットワークの構築と連携はその核としている。主にブルキナファソ（マラリア・デング熱）、ナイジェリア（マラリア）、台湾（デング熱）の各国の研究機関と密に研究交流を実施し、技術移転や研修等を実施している。これらの研究基盤と実績をもとに、2015年に日本医療研究開発機構（AMED）の大型研究費の獲得に成功した。この研究課題は2020年度末まで継続し、これにより本センターの十分な研究遂行体制を確保するに至った。病原体媒介節足動物を扱う衛生動物学は、その歴史は長く、強固な知見の積み重ねに支えられている。加えて、ゲノム情報の整備、トランスジェニック・CRISPR/Cas9によるゲノム編集等遺伝子改変技術の開発、イメージング技術の飛躍的向上など、衛生動物を対象にした研究基盤が先鋭化しつつある。本センターは、「ファースト・イン・フィールド（First in Field）」を標榜している。基盤研究を比較的容易に社会実装に適応可能な、衛生動物学の特徴を最大限に生かせるよう、研究実践力を身に付けることが望ましい。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Badolo A¹⁾²⁾³⁾ (³Université de Ouagadougou), Bando H¹⁾, Traoré A²⁾, Ko-Ketsu M¹⁾, Guelbeogo WM²⁾, Kanuka H, Ranson H (Liverpool Sch Tropical Med), Sagnon N²⁾ (²CNRFP), Fukumoto S¹⁾ (¹Obihiro Univ Agriculture Veterinary Med). Detection of G119S ace-1 (R) mutation in field-collected *Anopheles gambiae* mosquitoes using allele-specific loop-mediated isothermal amplification (AS-LAMP) method. *Malaria J* 2015; 14: 477.

III. 学会発表

- 1) 山地佳代子, 下島昌幸¹⁾, 西條政幸¹⁾ (¹国立感染症研究所), 青沼宏佳, 嘉糠洋陸. (ポスター: 疾患生物学-3) 感染症) 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスのマダニにおける垂直感染. BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会, 第88回日本生化学会大会). 神戸, 12月.
- 2) Okado K, Sakuma S, Ymaji K, Aonuma H, Kanuka H. (Session 3: Physiology & behaviour) Non blood-sucking vectors: odor-based mechanical transmission of bacteria by fly feces. *Molecular and Population Bi-*

ology of Mosquitoes and Other Disease Vectors. Kolymbari, July.

- 3) Yamaji K, Shimojima M¹⁾, Saijo M¹⁾ (¹Natl Inst Infectious Diseases), Aonuma H, Kaunuka H. Evidence of vertical transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in field-collected ticks. *Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology: the Arthropod Vector: the Controller of Transmission.* Taos, May.
- 4) Kanuka H. The role of gut in pathogen-transmitting mosquito: barrier or gate? 36th Annual Meeting of Taiwan Entomological Society. Taichung, Aug.
- 5) 横山卓也, 池田 愛, 浅野和仁¹⁾ (¹昭和大), 渡邊直熙, 友安慶典 (マイアミ大), 嘉糠洋陸. 中間宿主甲虫の小形糸虫に対する感染コンピテンシー. 第回分子寄生虫学ワークショップ/第13回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 帯広, 8月.
- 6) Kanuka H. (Symposium) Insect and pathogen interaction: friend or enemy? 第5回モデル生物丸ごと一匹学会. 豊中, 12月.