

尾花 望 (筑波大), 齋藤勝晴 (信州大) 編. 食と微生物の事典. 東京: 朝倉書店, 2017. p.370-1.

2) 吉井 悠, 奥田賢一, 杉本真也. 第4章: 食とヒト常在微生物 28. 鼻咽腔と咽頭の微生物. 北本勝ひこ¹⁾, 春田 伸 (首都大学東京), 丸山潤一¹⁾ (¹⁾ 東京大), 後藤慶一 (東海大), 尾花 望 (筑波大), 齋藤勝晴 (信州大) 編. 食と微生物の事典. 東京: 朝倉書店, 2017. p.372-3.

3) 千葉明生, 杉本真也. 第4章: 食とヒト常在微生物 36. 手洗いと表皮常在微生物. 北本勝ひこ¹⁾, 春田 伸 (首都大学東京), 丸山潤一¹⁾ (¹⁾ 東京大), 後藤慶一 (東海大), 尾花 望 (筑波大), 齋藤勝晴 (信州大) 編. 食と微生物の事典. 東京: 朝倉書店, 2017. p.388-9.

熱帯医学講座

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

教育・研究概要

I. ダニの再吸血に対する抵抗性を担う吸血部位への好塩基球の集簇における皮膚内在性の記憶 T 細胞由来インターロイキン 3 (IL-3) の重要性

吸血昆虫によって伝播される感染症は医学的にも重要であり, ダニはライム病などを引き起こすことが知られている。数種類の動物において, ダニの初回吸血によって後の再吸血に対する抵抗性が誘導されることが示されている。我々はこれまでマウスモデルを用いて, 初回吸血では認めないダニ吸血部位への好塩基球の集簇が再吸血の際に認められること, さらにこの集簇がダニの再吸血に対する抵抗性に重要な役割を演じていることを示してきた。今回, 我々はこの好塩基球の集簇に関与する細胞とその産物について検討を加えた。T 細胞を欠失したマウスでは好塩基球の集簇はほとんど認められなかったが, CD4 陽性 T 細胞の移入によって認めるようになった。再吸血の際にダニの吸血部位に IL-3 遺伝子の発現亢進を認めたために, IL-3 産生可能な CD4 陽性 T 細胞を T 細胞欠失マウスへ移入すると抵抗性を獲得させることができた。一方, IL-3 を遺伝的に欠失させたマウスの CD4 陽性 T 細胞の移入では獲得されなかった。これは再吸血部位への好塩基球の集簇に CD4 陽性 T 細胞由来の IL-3 が極めて重要であることを示している。興味深いことに, 再吸血前の初回吸血部位から距離をおいた“吸血を受けたことのない皮膚”に存在する CD4 陽性記憶 T 細胞も IL-3 を保有することを認めた。これらの結果は, 皮膚に内在する CD4 陽性 T 細胞由来の IL-3 が, ダニによる再吸血部位への好塩基球の集簇に不可欠であることを示している。このような吸血に対する抵抗性発現のメカニズム解明は, 吸血昆虫による感染症の伝播に対する新たなワクチン戦略に資すると考えられる。

II. 改良マゴットセラピー (Maggot Debridement Therapy: MDT) に向けた高機能マゴットの樹立

MDT とは, ヒロズキンバエ幼虫が患者の壊死組織だけを摂食する性質を利用し, 人体の難治性創傷

を治療する方法である。MDTにはヒロズキンバエが適種とされ、その幼虫が治療に用いられている。しかし、これまでにMDTにより適したヒロズキンバエ系統の確立や選抜、解析等はおこなわれていない。そこで本研究ではまず、ヒト壊死組織摂食能力の高い系統の樹立に向け、ヒト遺体から採取したヒロズキンバエの系統樹立を試みた。法医学講座で法医解剖に供された複数検体からウジを採取、飼育し、新規ヒロズキンバエ系統を樹立した。これらの幼虫に、形成外科において手術中に廃棄されたヒト組織を飼料として与え、摂食量、乾燥重量、成長について評価し、MDT治療用標準系統との比較をおこなった。この結果、最も成績が良好だった系統では、摂食量が多く幼虫成長速度が速いこと、ヒト皮膚組織およびヒト壊死組織の摂食後の体重が約1.5倍であることが観察された。つまり、この系統をMDTに用いることにより、短期間に効果的なデブリードマンを実施出来る可能性が示唆された。一方、MDTにおいて、効率的な肉芽形成は創傷の予後を規定する重要な要因となる。これには、マゴットの唾液等の外分泌液が関与し、創傷再生が促進されている可能性が示されている。そこで、新規系統のマゴット分泌液を対象に、ヒト包皮線維芽細胞の増殖試験をおこなった。新規系統および標準系統の1齢幼虫から外分泌液を抽出、濃縮した。これをヒト包皮線維芽細胞の培養液中に添加し、細胞増殖を調べた。この結果、マゴット外分泌液由来のタンパク質溶液を添加した場合において、標準系統と比較して、新規系統の外分泌液添加群では細胞増殖がより促進された。以上の結果は、MDTを用いた臨床治療における、ヒロズキンバエ系統の選択と評価の必要性を強く示唆するものである。

Ⅲ. マダニによる宿主認識と行動メカニズムの解析

マダニや蚊のような吸血性節足動物は、宿主となる動物から吸血するために温度、二酸化炭素、匂いなどの外部環境を認識している。血液獲得を目的とした宿主への接近と、吸血後の逃避は吸血性節足動物において普遍的システムであるが、マダニでは昆虫と異なり触覚を欠き、さらに進化の過程で目を退化させたことから視覚系の欠損が認められる。したがって標的認識システムにおいて蚊などの吸血性節足動物とは完全に異なる独自の進化・適応を遂げたと考えられるが、宿主探知を支える分子基盤は明らかになっていない。そこで本研究課題では、ヒトからショウジョウバエまで温度感知センサーの責任因子として進化的に高度に保存されているTRPチャ

ネルに着目し、哺乳類を宿主とするフタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*) のTRPA1ホモログ (HITRPA1) を単離した。成ダニの各組織からRNA抽出を行い、cDNA合成・RT-PCR解析を行うことで、マダニ中腸、唾液腺、顎体部、第一脚～四脚を含む複数の組織でHITRPA1遺伝子が発現していることが示唆された。さらに単離したHITRPA1 cDNA配列をもとに抗体を作製、イムノブロット法により内在性HITRPA1の局在解析を実施した結果、中腸及び唾液腺からは検出されず、第一脚～四脚及び顎体部でのみ検出された。今後、HITRPA1遺伝子欠損マダニを作製し、これまでの研究にて開発したマダニ行動解析装置を用いて複数の宿主放出因子に対する反応(運動量、速度、蛇行性等)を解析することで宿主探索行動へのTRPA1分子の関与を検証する。

Ⅳ. ヤブカにおける吸血行動制御機構

病原体媒介節足動物(ベクター)による寄生虫やウイルス、細菌の伝播の根源はベクターの吸血行動である。そのため、吸血行動を司る機構を理解し制御することが望まれる。吸血は「吸血標的への誘引→吸血開始→吸血飽和状態→吸血停止→逃避」という連続的な過程の遂行により達成される。最初のステップである吸血標的への誘引機構の研究は蚊の嗅覚を中心に盛んであり、吸血標的が発する熱・二酸化炭素・匂いが大きな役割を果たすことやDEET等の忌避誘導の仕組みが明らかになっている。しかし、これらの要素は相乗的に作用しているため、嗅覚機能を失った蚊や二酸化炭素の認識が不可能な蚊も、標的を認識できることが報告されている。そこで標的への誘引に引き続く吸血行動、特に吸血開始に焦点を当てる。先行研究で、ネッタイシマカ成虫のオスとメスの口吻先端を用いてRNA-seq解析が行われ、非吸血性のオスに比べ吸血性のメスで顕著に発現が高い味覚受容体としてGr5が報告されていた。そこで、CRISPR/Cas9法を用いてGr5のエキソンにマーカーをノックインすることによりネッタイシマカGr5の機能欠損変異体の作成を行った。この変異体と野生型を用いてマウスへの誘引度を10分間観察したところ、マウスへの誘引度に大きな差はなかった。また吸血対象へ針を刺し血管を探り当てるプロービングと呼ばれる現象も変異体と野生型で同様に観察された。ところが興味深いことに吸血開始から40分後に、野生型ネッタイシマカの多く(22/34, 64.7%)は吸血を終えマウスへの誘引度が下がっているのに対し、Gr5機能欠損ネッタ

イシマカは継続してマウスへと誘引されており吸血率も低かった(6/31, 19.4%)。以上より, Gr5 機能欠損ネッタイシマカでは吸血標的への誘引と血液探索行動は正常であり, それに引き続く吸血開始に異常がみられることが判明し, Gr5 は吸血開始に寄与する味覚受容体であることが示唆された。今後, 1. Gr5 のリガンドを同定し, 2. Gr5 を発現する神経を同定することで, 吸血開始を制御する神経基盤解明をさらに進める。

「点検・評価」

1. 研究について

講座が対象とする研究領域は, 衛生動物学を中心に, 原虫学および蠕虫免疫学も加えた陣容になっている。衛生動物学については, 病原体媒介節足動物のみならず, 創傷治癒等に使用されるウジ虫治療や法昆虫学など Medical Entomology の名にふさわしい研究課題も扱っている。研究対象となる病原体はウイルスから蠕虫まで多岐に渡り, 中間宿主を豊富に取り揃えていること, 感染実験に特化した各種実験室を整備済みであることなどの特色を生かして, 各種病原体の生活環全体を俯瞰的に構築できることが最大の強みとなっている。国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の大型研究費により, 本年度からポスドク研究者 2 名が参画し, 十分な研究遂行体制と相成った。また, 旧寄生虫学教室から熱帯医学講座に移行後, 2 人目の本学大学院博士課程学生 (医師) が加入し, 若手感染症研究者のリソースとして研鑽を積んでいる。新規研究課題の立ち上げや既存課題の進展に際し, 研究材料の導入や技術の習得, 共同研究の打診等を躊躇しない姿勢は本年度も堅持され, 各研究テーマが十分に深化したと評価する。特筆すべきは, デングウイルスやジカウイルス等蚊媒介性アルボウイルスが導入され, さらに単回感染性ウイルス粒子の作成が可能になったことによる, ウイルス関連実験の幅が飛躍的に広がったことである。また, 長年共同研究を実施している西アフリカ・ブルキナファソにおいて, 国立ワガ第一大学に本学サテライトラボが設置された。これにより遺伝子関連実験等が実施可能な環境が整い, 国際共同研究体制のさらなる実質化を果たした。過年度に引き続き, 本学において, 節足動物媒介性感染症の国際シンポジウムを開催した。本学での国際シンポジウムは 4 回目を迎え, 最先端研究を実施している衛生動物学者と有機的連携を構築することに成功した。熱帯医学は寄生虫学・医動物学を内包し, その研究対象も多岐に渡る。当講座は, 伝統的に講座

構成員が個別の課題に取り組む姿勢を堅持している。感染症が研究対象ゆえ, 重要な課題は時々刻々と変化し, また研究そのものの技術革新も進んでいることから, より普遍的で新しい概念を常に模索する姿勢が肝要である。また, 突如出現する新興・再興感染症について, 社会の公衆衛生的受容に応え, 流動的に対応できる研究実践力を身に付けることが望ましい。

2. 教育について

全教員がコース臨床基礎医学のユニット「寄生虫と感染」の講義と実習, ユニット「感染・免疫テュートリアル」, コース研究室配属およびコース選択実習を, 一部教員がコース臨床基礎医学のユニット「免疫と生体防御」を担当した。寄生虫症自体はマイナーな鑑別疾患でありながら, 何れの診療科にも患者が現れる可能性があるステルス型疾患であることから, 従来のコアカリキュラムに準拠しつつも医療現場のニーズに則した講義・実習を心掛けた。加えて, 寄生虫症等感染症の国内での疾病構造の急激な変化, および国際社会の発展に伴う熱帯由来感染症のボーダーレス化を踏まえ, 講義内容および学習順序等の再検討と, 実習内容 (特に再興感染症に該当する寄生虫症) の追加拡充を実施した。実習では, 学生数増への対応と教育効果上昇を指向したグループ別のローテーション型実習に改良を加え, 本年度も実施した。次年度以降も講義・実習の一部を流動的に扱い, 新興・再興寄生虫症に対応可能な医学教育を試みる。ブルキナファソの大学院生 1 名を招聘し, 蚊媒介性感染症の分子遺伝学解析についての共同研究 (1 ヶ月) を本講座にて実施した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Osada Y¹⁾, Fujiyama T¹⁾, Kamimura N¹⁾, Kaji T¹⁾, Nakae S (Univ Tokyo), Sudo K (Tokyo Med Univ), Ishiwata K, Kanazawa T¹⁾ (¹ Univ Occupational Environmental Health). Dual genetic absence of STAT6 and IL-10 does not abrogate anti-hyperglycemic effects of *Schistosoma mansoni* in streptozocin-treated diabetic mice. *Exp Parasitol* 2017; 177: 1-12.
- 2) Shimokawa C¹⁾, Kanaya T¹⁾, Hachisukka M¹⁾, Ishiwata K, Hisaeda H (Gunma Univ), Kurashima Y²⁾, Kiyono H²⁾ (² Univ Tokyo), Yoshimoto T (Hyogo Coll Med), Kaisho T (Wakayama Med Univ), Ohno H¹⁾ (¹ RIKEN). Mast cells are crucial for induction of group 2 innate lymphoid cells and clearance of helminth infections. *Immunity* 2017; 46(5): 863-74. e4.

- 3) Tsubokawa D¹, Ishiwata K, Goso Y¹, Nakamura T¹, Hatta T¹, Ishihara K¹, Kanuka H, Tsuji N¹ (¹ Kitasato Univ). Interleukin-13/interleukin-4 receptor pathway is crucial for production of Sd^a-sialomucin in mouse small intestinal mucosa by *Nippostrongylus brasiliensis* infection. *Parasitol Int* 2017; 66(6): 731-4.
- 4) Ohta T¹, Yoshikawa S¹, Tabakawa Y¹, Yamaji K, Ishiwata K, Shitara H², Taya C² (² Tokyo Metropolitan Inst Med Sci), Oh-hora M (Kyushu Univ), Kawano Y¹, Miyake K¹, Yamanishi Y¹, Hironichi Yonekawa H², Watanabe N, Kanuka H, Karasuyama H¹ (¹ Tokyo Med Dent Univ). Skin CD4⁺ memory T cells play an essential role in acquired anti-tick immunity through interleukin-3-mediated basophil recruitment to tick-feeding sites. *Front Immunol* 2017; 8: 1348.

II. 総説

- 1) 水口萌子, 嘉糠洋陸. 【多様化する感染症研究】節足動物媒介性感染症・蚊が媒介者たる理由. *細胞* 2017; 49(14): 711-4.
- 2) 山地佳代子, 嘉糠洋陸. 最新のニュースから マダニ媒介性の新興感染症: 重症熱性血小板減少症候群. *現代化学* 2017; 559: 57.

III. 学会発表

- 1) 大手 学, 嘉糠洋陸. ヤブカにおける共生細菌ボルバキアとウイルスの相互作用. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会). 神戸, 12月.
- 2) Kanuka H. Boosting new arms to tackle pathogen-vector mosquitoes. Joint 5th SASA (Society for the Advancement of Science in Africa) International Conference & 2nd Rwanda Biotechnology Conference. Kigali, Dec.
- 3) Ote M, Kanuka H. Symbiotic bacteria Wolbachia manipulate host germline stem cells by targeting host RNAs. EMBO Conference: Molecular and Population Biology of Mosquitoes and Other Disease Vectors, Vector and Disease Control. Kolymbarie, July.
- 4) 市村秀俊, 佐久間知佐子, Chun-Hong Chen, 嘉糠洋陸. デングウイルス媒介蚊における吸血宿主認識メカニズムの解析. 第69回日本衛生動物学会大会. 4月, 長崎.
- 5) 佐久間知佐子, 嘉糠洋陸. ヤブカにおける吸血促進因子 ATP の作用機序の解明. 第69回日本衛生動物学会大会. 4月, 長崎.
- 6) 佐久間知佐子, 嘉糠洋陸. 蚊の吸血開始および吸血停止を制御する分子基盤の解明. 第62回日本応用動物昆虫学会大会. 鹿児島, 3月.
- 7) 嘉糠洋陸, 吉田拓磨, 大塚沙緒里, 青沼宏佳. マゴットセラピー用新規ヒロズキンバエ系統の樹立の試み. 第62回日本応用動物昆虫学会大会. 鹿児島, 3月.
- 8) 大手 学, 嘉糠洋陸. 共生細菌ボルバキアによるRNAウイルス抑制の分子機構. 第62回日本応用動物昆虫学会大会. 鹿児島, 3月.
- 9) 吉田拓磨, 青沼宏佳, 杉本紗里, 大塚沙緒里, 岩橋公晴, 宮脇剛司, 嘉糠洋陸. デブリードマン効果の高い新規医療用ウジ系統の樹立. 第26回日本形成外科学会基礎学術集会. 大阪, 10月.
- 10) 吉田拓磨, 青沼宏佳, 杉本紗里, 大塚沙緒里, 岩橋公晴, 宮脇剛司, 嘉糠洋陸. デブリードマン効果の高い新規医療用ウジ系統の機能評価. 第5回マゴットセラピー症例検討会. 東京, 11月.
- 11) 石渡賢治. 消化管寄生線虫の再感染防御における腸管粘膜バリアー. 第86回日本寄生虫学会大会. 札幌, 3月.
- 12) 石渡賢治. *Heligmosomoides polygyrus* の再感染防御における腸管粘膜バリアー. 第11回蠕虫研究会. 長崎, 9月.
- 13) Ishiwata K. T cell-dependent long-lasting blockade of mucosal penetration by infective larvae of a murine gastrointestinal nematode. 第46回日本免疫学会学術集会. 仙台, 12月.
- 14) Ishiwata K. Another protective immune response against *Heligmosomoides polygyrus* reinfection revealed by reviewing of the infection dynamics. 第11回寄生虫感染免疫研究会. 三鷹, 2月.
- 15) Ishiwata K. A new immune-mediated protective mechanism against reinfection of *Heligmosomoides polygyrus* clarified by re-examining its infection mode. 第87回日本寄生虫学会大会. 東京, 3月.