

会、浜松、12月。

- 13) 杉本真也, 山中邦俊, 小椋 光, 金城雄樹. (ポスター) ペリプラズム局在プロテアーゼによる細菌のアミロイド線維形成の制御機構. 第42回日本分子生物学会年会. 福岡, 12月.
- 14) 金城雄樹, 常 彬, 丸山貴也, 藤倉裕之, 砂川富正, 西順一郎, 渡邊 浩, 鈴木 基, 大石和徳. (口頭) 成人の侵襲性肺炎球菌症例から分離した菌株の血清型及び Pneumococcal surface protein A (PspA) 型分布解析. 第23回日本ワクチン学会学術集会. 東京, 12月.
- 15) Sugimoto S, Yamanaka K, Ogura T, Kinjo Y. (Poster) The DnaK/Hsp 70 system modulates the activity of AAA + protease ClpXP. Keystone Symposia: AAA + Proteins: From Atomic Structures to Organisms (A5). Tahoe City, Jan.
- 16) 奥田賢一, Lopes AA, 吉井 悠, 山田聡美, 永倉茉莉, 水之江義充, 金城雄樹. (ポスター) MRSA におけるトランスグリコシラーゼ遺伝子の欠損は mecA 発現レベルに関わらず  $\beta$ -ラクタム感受性を誘導する. 第93回日本細菌学会総会. 名古屋, 2月.
- 17) 川久保俊, 高塚翔吾, 林崎浩史, 竹山春子, 大石和徳, 宮崎義継, 金城雄樹. (ポスター) ナチュラルキラー T 細胞の活性化を介した肺炎球菌蛋白ワクチンの免疫学的解析. 第93回日本細菌学会総会. 名古屋, 2月.
- 18) 田嶋亜紀子, 金城雄樹. (ポスター) バイオフィルム遊離細菌における好中球貪食回避. 第93回日本細菌学会総会. 名古屋, 2月.
- 19) 千葉明生, 金城雄樹. (ポスター) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する納豆菌の抗菌活性. 第93回日本細菌学会総会. 名古屋, 2月.
- 20) 金城雄樹. (ワークショップ WS01: 多角的な研究アプローチで再考する肺炎球菌感染症-疫学からワクチン・治療法まで-) 肺炎球菌蛋白ワクチンによる免疫応答の解析. 第93回日本細菌学会総会. 名古屋, 2月.

## V. その他

- 1) 奥田賢一. 最新の技術やニュースの紹介: バイオフィルム形成阻害試験自動化システム. 日本バイオフィルム学会会報 2019; 4: 7.
- 2) 杉本真也. イベント参加報告: 第92回日本細菌学会総会. 日本バイオフィルム学会会報 2019; 5: 5.

## 熱帯医学講座

講座担当教授: 嘉禎 洋陸 衛生動物学, 寄生虫学  
教授: 石渡 賢治 寄生虫感染と粘膜免疫

### 教育・研究概要

#### I. 芽殖孤虫の導入とマウスでの感染性

芽殖孤虫は、成虫が確認されていない条虫の幼虫形(孤虫)で、“わさびの根のよう”に芽が分枝したような形態を呈して人体内で増殖する。初症例は1905年に飯島 魁によって報告されている。以来、これまで世界で21例ほどしか報告がないが、多くの例で死の転帰をとっている。本邦での症例は7例(推定感染地は東京3例, 京都と熊本で2例づつ)と比較的多く、最新症例は虎ノ門病院から報告されている(青島正大他. 日胸疾患誌 1989)。成虫はもとより生活環, 感染経路が全く明らかになっていないが、芽殖孤虫症の病態は次のようにまとめられる。すなわち、皮下を始め、骨を含む全身の臓器で孤虫が無秩序に分枝あるいは出芽などによって増殖・分裂し、時として転移する。現行の抗寄生虫薬が功を奏さない。我々は世界で唯一、患者より分離された孤虫を維持してきた国立科学博物館より分与を受け、貴重な種の維持を分担する中で以下の様な事柄を確認した。1. マウス腹腔内への移植後2ヶ月程で腹腔内で遊離した状態で増殖・分裂して個体数を増やす。2. 時に腹膜, 横隔膜, 肝臓および肺に病巣を認める。3. 組織学的に病巣内に孤虫は観察されないが、孤虫の成分と考えられる物質周囲に円形細胞を主体とする細胞浸潤を認める。4. 3ヶ月ほど培養液中で維持しても増殖・分裂しないが、マウス腹腔内に移植すれば個体数を増やす。5) 孤虫を2分割し、その断片をマウス腹腔内に移植しても増殖する。今後、本培養系および動物実験系を用いて、孤虫の増殖・分裂様式を明らかにし、また治療薬の開発を行う予定である。

#### II. ウイルス媒介蚊のゼノモニタリングを指向した vDNA-LAMP (virus-derived DNA -loop-mediated isothermal amplification) 法の開発

Dengue熱やジカ熱は、蚊媒介性のウイルスによる感染症である。これらの蚊媒介性ウイルス感染症の包括的なコントロールには、蚊におけるウイルス保有状況を正確かつリアルタイムに明らかにすること

が重要である。この蚊を対象とした病原体保有調査は、ゼノモニタリングと呼ばれ、フィラリア等の寄生性蠕虫の媒介蚊において多くの成果が得られている。一方、蚊媒介性ウイルスの主たるものはそのほとんどがRNAウイルスであり、ゲノムRNAは容易に分解される。よって、野外で採集された蚊サンプルでのRNAの保存性の問題から、PCR等の遺伝子増幅による蚊媒介性ウイルスの検出はこれまで極めて困難であった。

2016年に、デングウイルスおよびチクングニアウイルスに感染した昆虫細胞および蚊の体内において、ウイルス由来のDNAが産生されていることが報告され、vDNAと命名された(Goic B, et al. Nat Commun 2016)。vDNAは、本来のRNAウイルスの生活環には存在しないものであり、蚊細胞内の内在性逆転写酵素によって、ウイルスRNAを鋳型に合成されると考えられている。合成されたvDNAは、RNAi経路を介して蚊体内のウイルス量の調節を担っていることも示唆されている。

本研究は、ウイルス感染蚊体内でvDNAが産生される事実を利用し、RNAに代わり、vDNAを検出対象とした新規のゼノモニタリング法を確立することを目的とするものである。デングウイルス2型およびジカウイルスを蚊由来培養細胞であるC6/36細胞に感染させ、細胞からDNAを抽出した。同様に、これらのウイルスを人工吸血によりネッタシマカに感染させ、蚊個体からDNAを抽出した。デングウイルス2型およびジカウイルスのゲノム配列情報をもとにプライマーを設計・最適化し、これらのプライマーにより等温遺伝子増幅法であるLAMP法を実施したところ、いずれの実験でもウイルス由来のDNAの増幅を認めた。

次いで、このvDNA-LAMP法の野外実証試験をおこなった。アフリカで最大のデング熱流行地である西アフリカ・ブルキナファソにおいて、同意取得済の約1,000世帯(都市部・都市近郊・農村部の3地点)にて蚊(ヤブカ)の定点採集を実施した。採集した蚊は、シリカゲル入りのチューブ内で乾燥した状態で保存した。世帯ごとにプールした蚊検体からDNAを抽出し、それらをテンプレートとしてデングウイルス2型のvDNA-LAMP法を実施した。その結果、48%の世帯にvDNA陽性ヤブカが存在したことが明らかとなった。これらの結果から、vDNAとLAMP法を組み合わせることで、RNAを取り扱うことなくDNAレベルでのゼノモニタリングが可能であることが示された。

### Ⅲ. SFTS(重症熱性血小板減少症候群)ウイルス由来vDNAを指標にした新規マダニ疫学調査法の開発

SFTSは、2011年に中国で初めて報告されたブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類されるRNAウイルスによるマダニ媒介性感染症である。現在も、中国・韓国・日本を中心に猛威を振るっており、これまで8,000症例以上が報告され、致死率は6.4~20.9%で推移している。SFTSウイルス拡散状況の把握には、野外生息マダニのSFTSウイルス保有率調査が重要であるが、野外採集マダニからのRNAウイルス検出は、RNAの安定維持に労力やコストを費やす。そこで本研究では、近年、デングウイルスやチクングニアウイルスで相次いで報告されているRNAウイルスのDNAフォーム(vDNA)を指標にすることで、より正確な評価を可能とする新規疫学調査法の開発に向けて、野外生息マダニからのSFTSウイルス由来vDNAの検出を試みた。

SFTS死亡患者発生地域である九州地方を対象地域とし、2018年と2019年の2年間で患者発生地域近隣の20ヶ所でFlagging法により合計2,024匹のマダニを採集し、エリアごとにプール化(1~10匹)した。DNAを抽出後、vDNA-LAMP法にてSFTSウイルスのDNAフォームの検出を試みた。その結果、379サンプルのうち、11サンプルにてSFTSウイルス由来vDNAが検出された。SFTS流行地域から採集したマダニからのSFTSウイルス由来vDNA検出に成功したことで、現在、検出感度や利便性における他手法との比較を行うことによりマダニ疫学調査への応用の妥当性を検討している。

### Ⅳ. ヤブカにおける吸血行動制御機構

蚊の吸血行動は、感染症の病原体である寄生虫やウイルスがヒトや動物へと伝播する根源の行動である。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。吸血前に蚊が吸血標的へと誘引される機構の研究は盛んであり、吸血標的が発する熱・二酸化炭素・匂いが必要な役割を果たすことが解明されている。しかし、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から、これら要素の相乗効果が示唆されている。よって、現段階では吸血標的に寄らない蚊を人為的に作出することは困難である。本研究では吸血を制御する分子機序の解明を目指すことにより、従来とは異なった作用点で蚊の行動を操作するための基盤を築く。

蚊の吸血を促進する因子として、吸血標的の赤血

球由来のATPが古くから知られており、さらに蚊は吸血標的の血漿のみでは吸血を行わないことが報告されていた。本研究において、ATPに血漿を添加して蚊に与えたところ、ATPのみを擬似吸血させた際に比較して、吸血を行った個体数、吸血度が共に減少した。この現象は、マウスとウサギの血液由来の血漿を用いた時に各々観察されたことから、血漿には蚊の吸血を抑制する普遍的な因子が存在することが示唆された。血漿の吸血抑制効果は、血漿を煮沸した後に遠心して得た上清のみを用いた時にも観察されたことから、非タンパク性の因子が吸血抑制に貢献すると予想された。さらに逆相カラムを用いたHPLCで煮沸血漿上清を分画し、各分画にATPを添加し蚊に添加したところ、親水性画分に吸血抑制活性を持つ因子が存在することが判明した。この親水性画分には多くの因子が含まれており、吸血抑制活性因子の実体はこれから同定する必要があるが、蚊は血液中に混在する吸血を正と負に制御するシグナルを各々味覚で感知し、文脈に応じて情報処理をしていると考えられる。

## 〔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、蠕虫免疫学、およびウイルス学を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、創傷治療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細菌、原虫、蠕虫まで多岐に渡り、中間宿主等も取り揃えていること、感染実験に特化した各種実験室を有してい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。最終年度を迎えたAMEDの大型プロジェクト研究費により、専従の研究補助員1名が参画し、衛生動物学の研究遂行体制が強化された。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、共同研究の受入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。前年度に導入した、媒介蚊種におけるCRISPR/Cas9によるゲノム編集技術の応用が軌道に乗り、病原体・宿主間相互作用や、蚊の神経科学・生理学的特徴などの解析を目指した関連実験の幅が飛躍的に広がっている。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設置した本学サテライトラボを

積極的に活用している。この共同研究から生まれた、媒介蚊側から流行状況を推測する新規方法（デングウイルス媒介ヤブカを対象にしたゼノモニタリング）は、蚊媒介性感染症の新しいコントロール法として注目されている。熱帯医学は寄生虫学・医動物学・感染症学などを内包し、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、社会の公衆衛生学的需要に応え、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」、コース研究室配属を、一部教員がコース臨床基礎医学「免疫と生体防御ユニット」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トレ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（特に原虫の生鮮標本の観察等）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適宜改良を加えて実施した。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。また、医学科学生のキャリアパスの多様化に伴い、将来の海外での活動を指向する学生に向けた、講座独自の海外渡航支援を本年度も実施した。コース研究室配属の枠組みを利用し、大学間協定を結んでいる国立ワガ第一大学において、医学科3年生1名が教員同伴のもと医学研究を約2週間実施した。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Endo Y, Onodera A, Obata-Ninomiya K, Koyama-Nasu R, Asou H, Ito, Yamamoto T, Kanno T, Nakajima T, Ishiwata K, Kanuka H, Tumes D, Nakayama T. *Acc1* determines memory potential of individual CD4<sup>+</sup> T cells by regulating de novo fatty acid biosyn-

thesis. *Nat Metab* 2019; 1(2): 261-75.

- 2) Takeuchi T, Tamura M, Ishiwata K, Hamasaki M, Hamano S, Arata Y, Hatanaka T. Galectin-2 suppresses nematode development by binding to the invertebrate-specific galactose $\beta$ 1-4fucose glycoepitope. *Glycobiology* 2019; 29(6): 504-12.
- 3) Pillai MR, Mihi B, Ishiwata K, Nakamura K, Sakuragi N, Finkelstein DB, McGargill MA, Nakayama T, Ayabe T, Coleman ML, Bix M. Myc-induced nuclear antigen constrains a latent intestinal epithelial cell-intrinsic anthelmintic pathway. *PLoS One* 2019; 14(2): e0211244.
- 4) Hoshina T, Horino T, Saiki E, Aonuma H, Sawaki K, Miyajima M, Lee K, Nakaharai K, Shimizu A, Hosaka Y, Kato T, Sato F, Nakazawa Y, Yoshikawa K, Yoshida M, Hori S, Kanuka H. Seroprevalence and associated factors of toxoplasma gondii among HIV-infected patients in Tokyo: a cross sectional study. *J Infect Chemother* 2019; 26(1): 33-7.
- 5) Hoshina T, Fukumoto S, Aonuma H, Saiki E, Hori S, Kanuka H. Seroprevalence of Toxoplasma gondii in wild sika deer in Japan. *Parasitol Int* 2019; 71: 76-9.

### III. 学会発表

- 1) 嘉穂洋陸. 寄生虫感染モデルマラリア温故知新. 第8回実験動物科学シンポジウム東京, 10月.
- 2) 石渡賢治. 腸管寄生虫症. 第22回日本臨床腸内微生物学会総会・学術集会. 東京, 9月.
- 3) 青沼宏佳, 櫻井達也, Badolo A, 嘉穂洋陸. ウイルス媒介蚊のゼノモニタリングを指向したvDNA-LAMP法の開発. 第12回LAMP研究会. 東京, 1月.
- 4) 佐久間知佐子, 嘉穂洋陸. (Poster) The role of Transient-receptor-potential-like (TRPL) in blood sucking behavior of *Aedes aegypti*. 日本比較生理生化学会第41回東京大会. 東京, 11月.
- 5) 佐久間知佐子, 嘉穂洋陸. (口頭) 蚊の吸血を正と負に制御する味覚受容機構の解明. 第64回応用動物昆虫学会大会. 名古屋, 3月. (みなし開催)
- 6) Ichimura H, Sakuma C, Kanuka H. Transgenerational effects on antibacterial immunity by inducing short-term blood host adaptation of yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. Integrated Insect Immunology: Controlling Infections (Jacques Monod Conference). Roscoff, June.

## 環境保健医学講座

講座担当教授：柳澤 裕之 生体における必須微量元素の役割, 産業および環境化学物質の毒性 (特に中毒性腎症)・変異原性・発癌性, 職場のメンタルヘルス

教授：須賀 万智 疫学, 予防医学  
 講師：山内 貴史 疫学, 予防医学  
 講師：与五沢真吾 癌予防医学, 細胞生物学, 分子生物学  
 講師：吉岡 亘 毒性学, 分子生物学

### 教育・研究概要

I. 架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物を取り扱う労働者に発生した呼吸器疾患に関する研究  
 架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物を製造する工場で肺障害が多発した。当該物質ならびに有機合成化合物の粉じん吸入による肺障害は報告例がなかったことから、労災疾病臨床研究事業費補助金を受け、実験と疫学の両面から検証する研究を実施した。ラットを用いた曝露試験と定期健康診断結果の後方視的分析を行い、当該物質を日常的に高濃度に吸入しつづけたことによって肺障害が生じたことを支持する結果を得た。

### II. 実験医学

1. 透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた PAMAM dendrimer 曝露影響の分析  
 分岐構造を持つ樹状高分子である PAMAM dendrimer ethylenediamine core (dendrimer) が小核誘発作用を有することを明らかにしてきた。本年は、チャイニーズハムスター由来肺線維芽細胞 (CHL/IU 細胞) に小核を誘発する条件で dendrimer を曝露し分析した。その結果、細胞の内部構造の変化および付着等の影響は TEM を用いた分析では観られなかった。

2. エネルギー分散形 X 線分析装置 (EDS) による細胞内の元素分析

酸化アルミニウムナノ粒子 ( $Al_2O_3$ ), 酸化セリウムナノ粒子 ( $CeO_2$ ), 酸化亜鉛ナノ粒子 ( $ZnO$ ) を各々曝露した CHL/IU について、TEM および走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて、細胞内への取り込みと付着の有無等を分析した。また、EDS による細