

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
 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
 講師：大手 学 衛生動物学

教育・研究概要

I. ボルバキアと宿主由来の母性 RNA 結合因子によるデングウイルスの制御

節足動物に広く感染する細胞内共生細菌ボルバキアは、宿主の雌化，雄殺し，細胞質不和合性といった性・生殖攪乱や，RNA ウイルスの増殖抑制を引き起こす。我々は，ボルバキアがショウジョウバエ雌の生殖細胞で，母性 RNA-タンパク質複合体 P body の働きを攪乱することを明らかにした。この機構がボルバキアによる多彩な宿主操作の基盤となる可能性について検証を行った。その結果，ヤブカ培養細胞にてデングウイルス複製サイトに複数の P body 因子が集積することが明らかになった。また，これら遺伝子のノックダウンを行ったところ，ウイルス増殖が顕著に抑制された。以上の結果，母性 RNA のみを制御すると考えられてきた複数の RNA 結合タンパク質が，体細胞においてデングウイルスの増殖に関与する可能性が示された。デングウイルスの複製は，ボルバキアの持つ宿主母性 RNA 制御因子 TomO によって抑制されることを明らかにした。このことから，母性 RNA とデングウイルス RNA が，共通の機構によってボルバキアによって制御されていることが示唆された。

II. ヒトスジシマカ卵の越冬メカニズムにおける遺伝的基盤の解明

越冬は，冬季に気温が低下する高緯度地域の生物一般に観察される現象である。ヤブカの一種であるヒトスジシマカはアジアに広く生息するが，東南アジアなどの熱帯地域に棲むものは，通年で卵から成虫までの生活環を繰り返す一方，温帯地域に棲む同種は，晩秋に越冬卵を形成する。越冬卵の内部では一齢幼虫まで発生が進行するが，そこで一旦発育を停止し，気温が上昇する初夏になって初めて孵化する。この間，低温，乾燥，飢餓などのストレスに耐性を示す。ヒトスジシマカ卵の越冬メカニズムを解明するため，我々は異なる 2 系統（温帯系統と熱帯系統）の存在に着目した。日本とマレーシアでそれぞれ採取された系統について，越冬条件下で飼育後

に産卵させ，その孵化率を調べた。その結果，マレーシア系統の卵は 82% が孵化したが，日本系統の卵では 1 % 未満であり，ほぼ全てが越冬卵として形成された。このことから，前者は熱帯系統，後者は温帯系統であることが示された。次に，これら 2 系統において，RNA-seq により経時的・網羅的に胚発生期の遺伝子発現変化を比較したところ，ストレス耐性遺伝子などの候補が同定された。その上，孵化行動への神経伝達制御系の重要性から，神経ペプチド関連遺伝子群の変動に注目した。キイロショウジョウバエの神経ペプチドとその受容体遺伝子のうち，33 個について RNAi による機能阻害を行ったところ，正常な胚発生に必須な 9 個の遺伝子が同定された。これらに対応するヒトスジシマカ相同分子の中で，温帯系統の越冬卵と，熱帯系統の通常卵の間で著しく発現量が異なるのは，*capa* 遺伝子のみであった。そこで，CRISPR/Cas9 システムにより，熱帯・温帯それぞれの系統を用いて *capa* 遺伝子欠損変異体を作製した。現在，この *capa* 遺伝子欠損変異体はヘテロ接合体であるため，交配によってホモ接合体を作出し，系統化を試みている。系統確立後に，*capa* 遺伝子の越冬卵形成及び維持への機能を評価する予定である。

「点検・評価」

本センターは，蚊やマダニなど吸血節足動物による感染症を対象にした，日本で唯一の研究機関である。2014 年秋に先端医学推進拠点群のひとつとして設置され，これまでに特に節足動物媒介性感染症の研究を中心に活動している。本年度は，本センターが中心となって獲得した AMED の大型研究プロジェクトの最終年度にあたる。顧みられない熱帯病に分類されるデング熱とその病原体（デングウイルス）を中心に，病原体および媒介節足動物種を縦軸と横軸に据え，多角的かつ効率的に研究に取り組んだ。本センターは，熱帯医学講座，感染制御科，実験動物研究施設等の教員や研究補助員，大学院生等が参画する，学内横断的組織である。節足動物媒介性感染症の性質上，国際共同研究推進に重きを置いており，本年度はアフリカ感染症流行地域 2 ヶ国に渡航し，研究活動を実施した（ブルキナファソ，エチオピア）。これらの国の研究機関と密に研究交流・共同研究を推進することで，蚊媒介性感染症の先進的研究を効率的に展開した。本センターは，節足動物媒介性感染症の予防医学を念頭に置いた「ファースト・イン・フィールド（First in Field）」を標榜している。常に社会実装を想定しつつ，基盤研究シー

ズを着実に見つけ出し深化する姿勢を身に付けることが望まれる。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Badolo A, Sombié A, Pignatelli PM, Sanon A, Yaméogo F, Wangrawa DW, Sanon A, Kanuka H, McCall PJ, Weetman D. Insecticide resistance levels and mechanisms in *Aedes aegypti* populations in and around Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS Negl Trop Dis* 2019; 13(5): e0007439.
- 2) Sato K, Ahsan Md. Tanveer, Ote M, Koganezawa M, Yamamoto D. Calmodulin-binding transcription factor shapes the male courtship song in *Drosophila*. *PLoS Genet* 2019; 15(7): e1008309.

II. 総説

- 1) Ote M, Yamamoto D. Impact of *Wolbachia* infection on *Drosophila* female germline stem cells. *Curr Opin Insect Sci* 2020; 37: 8-15.

III. 学会発表

- 1) Kanuka H. Boosting new arms to tackle pathogen-vector mosquitoes. International Symposium on Bio-CHAINS from Single Molecules to Highly Organized Systems. Gifu, June.
- 2) Kanuka H. Development of vDNA loop-mediated isothermal amplification method (vDNA-LAMP) to detect DNA form of arbovirus in mosquito. Integrated Insect Immunology: Controlling Infections (Jacques Monod Conference). Roscoff, June.
- 3) Kanuka H. Dissecting molecular mechanism of blood sucking behavior in *Aedes aegypti*. EMBO Workshop: Molecular and Population Biology of Mosquitoes and Other Disease Vectors. Chania, July.
- 4) Kanuka H. Dissecting molecular mechanism of blood sucking behavior in *Aedes aegypti*. BBSRC International Partnering Symposium: Mosquito Research - From Sensory Biology to Vector Control. London, Sept.
- 5) 嘉糠洋陸. (特別講演) 病原体媒介蚊のバイオロジー. 令和元年度馬防疫検討会「馬感染症研究会・研究部会」. 下野, 10月.
- 6) 大手 学, 嘉糠洋陸. (口頭) 昆虫共生細菌ボルバキアによるデングウイルス RNA の制御. 第71回日本衛生動物学会大会. 山口, 4月.
- 7) Ote M. Virus RNA and insect germline RNA: candidate targets of *Wolbachia*-mediated phenomena.

EMBO Conference Molecular and Population Biology of Mosquitoes and Other Disease Vectors: Vector and Disease Control. Kolymbari, July.

- 8) 大手 学, 嘉糠洋陸. ヤブカにおける共生細菌ボルバキアによるウイルス制御. 第42回日本分子生物学会年会. 福岡, 12月.
- 9) 大手 学, 嘉糠洋陸. (口頭) ボルバキアと宿主由来の母性RNA結合因子によるデングウイルスの制御. 第64回日本応用動物昆虫学会大会. 名古屋, 3月. (みなし開催)