

ベクターコントロールに向けた感染抵抗性要因の遺伝学的解明

研究室 原虫進化生物学研究分野
Lab for Protozoan Evolution

**事業推進
担当者** 嘉糠 洋陸 (Hiroataka Kanuka), 福本 晋也 (Shinya Fukumoto)

**研究室
ホームページ** <http://www.obihiro.ac.jp/~mosquito/>

研究要旨

マラリア原虫に対する昆虫の感染抵抗性因子を探索する目的で、研究代表者らが世界に先駆けて立ち上げた「齧歯類マラリア原虫-ショウジョウバエ感染系」を利用し、異所発現トラップ法によるスクリーニングを実施した。その過程で Furrowed とよばれる因子の同定に成功した。研究代表者らのこれまでの研究結果から、この Furrowed は C 型レクチン構造を持つ膜型タンパク質であり、ショウジョウバエやハマダラカの中腸上皮に発現し、中腸を通過するマラリア原虫オーキネートもしくは中腸体腔側に形成されるマラリア原虫のオーシスト形成を抑制することが明らかとなった。Furrowed は C 型レクチン構造を介してマラリア原虫を直接認識する。また Furrowed は、細菌感染における機能解析から昆虫の液性免疫の重要なステップである抗菌ペプチド産生に関わることが明らかになった。この Furrowed は中腸において免疫応答をサポートする重要な因子であると同時に、研究代表者らの到達目標である「ベクターコントロールに向けた感染抵抗性要因の遺伝学的解明」に直接結びつく成果として期待され、現在さらなる解析を進めている。

病原体媒介節足動物の感染抵抗性メカニズム

本研究は、蚊、ハエ、ノミやシラミなど節足動物を媒体とした疾病に対し、昆虫自体が保有する感染抵抗性を調節する方法を探索し、病原体を保持することが不可能な昆虫（“アンチ・インセクトベクター”）を作出することを目的とし、このベクターを優占種とすることにより感染症の制圧を目指す基礎研究基盤とするものである。それぞれの疾病を引き起こす病原体（ウイルスや寄生虫）が節足動物の体内で成長・増殖し、それらの病原体が宿主に伝播されることにより感染が成り立つ。このような病原体媒介節足動物はインセクトベクター（“運び屋昆虫”）と呼ばれ、農作物、家畜、野生動物、そして伴侶動物（ペット）に疾病を媒介し広く被害を及ぼしている。またこれらの中には人間と動物間に病原体が相互伝播する人獣共通感染症を媒介するものも多数存在し、対策が不可欠となっている。そこで本研究では、病原体を媒介する昆虫が持つ固有の免疫応答を改変することにより、その体内で病原体の生活環が機能し得ない状態を作り上げることを最大の目的とする。これはこれらの感染症が、その

発生様式上、節足動物の媒体を必須としている点に着目した概念である。本研究では、媒介節足動物の感染抵抗性状態を遺伝学的手法により作り出し、その要因およびメカニズムを明らかにすることによって、ベクターコントロールに向けた病原体排除方法の確立を目指す。

新規 C 型レクチン Furrowed の発見

マラリア原虫に対する感染抵抗性遺伝子を探索する目的で、研究代表者らが世界に先駆けて立ち上げた「齧歯類マラリア原虫-ショウジョウバエ感染系」を利用し、異所発現トラップ法によるスクリーニングをおこない、その結果 Furrowed とよばれる因子の同定に成功した。この Furrowed をアンチ・インセクトベクターの開発のための重要因子とするためには、実際にマラリア原虫を媒介するハマダラカにおいてその機能が保存されていることが必須である。そこで研究代表者らは、ハマダラカの一つである *Anopheles gambiae* ゲノムから furrowed のホモログ遺伝子を同定した。この遺伝子産物であるハマダラカ Furrowed は、ショウジョウバエと同様の構造を取る C 型レクチン膜タンパク質であった。ハマダラカ Furrowed を認識するモノクローナル抗体を作成し、その発現パターンをハマダラカ成虫にて観察したところ、極めて興味深いことにメスの中腸において Furrowed が吸血依存性に発現上昇することが明らかとなった。この結果から、マラリア原虫オーキネートが中腸を通過する際に Furrowed が作用する可能性が示唆され、次に示す RNA 干渉実験をおこなったところ、RNA 干渉法によってハマダラカ Furrowed の機能を阻害した場合は、マラリア原虫オーシスト数が有意に増加することが明らかとなった。よってハマダラカにおいて Furrowed はマラリア原虫オーキネートを積極的に排除している可能性が高まり、それを裏付けるようにハマダラカ Furrowed の C 型レクチンドメインのタンパク質は、マラリア原虫オーキネート表面に直接結合することが明らかとなった。

インセクトベクターによる ベクターコントロール

本研究の「ベクターコントロールに向けた感染抵抗性要因の遺伝学的解明」という目標に対し、ショウジョウバエ及びハマダラカにおける Furrowed タンパク質の新しい機能の発見という成果は目覚ましく、これまでの本研究の進展を踏まえると、その到達目標はほぼ達成されたと考えられる。

新規のベクターコントロール手法開発において、極めて重要である点は免疫応答改変を可能にする感染抵抗性制御因子をなるべく多数用意することが必須である。それはインセクトベクターによって媒介され、農作物、家畜、野生動物、伴侶動物に被害を及ぼす疾病は多種多様であり、また病原体の種類も然りであることに起因する。

そのような節足動物媒介性疾病へのアプリケーションを考えた際に、インセクトベクターに原虫・細菌・ウイルスなどの異なった病原体に対して抵抗性を付与することができるだけの感染抵抗性因子が必要となる。これまでの本研究の遂行により、既に研究代表者らは十数種類に至る感染抵抗性制御因子を得ることに成功し、Furrowed を中心に新たな免疫応答システムの存在を示唆する結果も手中にある。よって、アンチ・インセクトベクターの開発のみならず、本研究を通じて見出された感染抵抗性システムの生物学的付加価値が高まることが強く期待される。これらの感染抵抗性制御因子の解析を滞りなく進め、今後は実際のインセクトベクターを用いたさらなる機能解析に加え、Furrowed などの感染抵抗性制御因子を発現する遺伝子組換え節足動物の作成を目指す。

発表論文

著者名	論文タイトル	掲載雑誌	巻	ページ	発行年
Hiroataka Kanuka, Erina Kuranaga, Tetsuo Hiratou, Hideyuki Okano, and Masayuki Miura	Drosophila Caspase Transduces Shaggy/GSK-3b Kinase Activity in Neural Precursor Development	EMBO Journal	24	3793-3806	2005
Hiroataka Kanuka, Tetsuo Hiratou, Tatsushi Igaki, Hiroshi Kanda, Erina Kuranaga, Kazunobu Sawamoto, Toshiro Aigaki, Hideyuki Okano, and Masayuki Miura	Gain-of-function screen identifies a role of the Sec61alpha translocon in Drosophila postmitotic neurotoxicity	Biochim Biophys Acta	1726	225-237	2005
Bryce Nelson, Shin-ich Nishimura, Hiroataka Kanuka, Erina Kuranaga, Masato Inoue, Gen Hori, Hiroyuki Nakahara, and Masayuki Miura	Isolation of gene sets affected specifically by polyglutamine expression: implication of the TOR signaling pathway in neurodegeneration	Cell Death Differ	12	1115-1123	2005
Erina Kuranaga, Hiroataka Kanuka, Ayako Tonoki, Kiwamu Takemoto, Takeyasu Tomioka, Masatomo Kobayashi, Shigeo Hayashi, and Masayuki Miura	Drosophila IKK-related kinase controls caspase activity through IAP degradation	Cell	126	583-596	2006
青沼宏佳, 嘉糠洋陸	寄生虫に対する貪食—“似て非なる者”の認識メカニズム	蛋白質核酸酵素	51	131-137	2006

Furrowed は C 型レクチン構造をもった膜レセプター様因子である

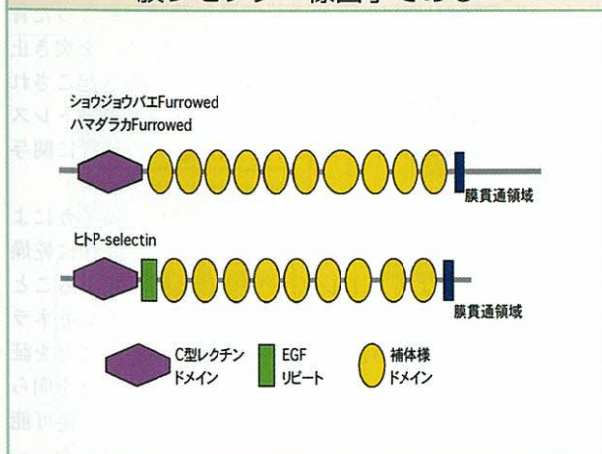


図1：Furrowed タンパク質は C 型レクチンドメイン、10回の補体様ドメインの繰り返し、および膜貫通領域を持ち、ショウジョウバエとハマダラカのゲノム中に1個ずつ存在する。哺乳類ホモログ (P-selectin) も存在し、EGF ドメインを有する以外は構造上の特徴がよく保存されている。

Furrowed はハマダラカ中腸において吸血依存性に発現誘導され、マラリア原虫に直接結合する

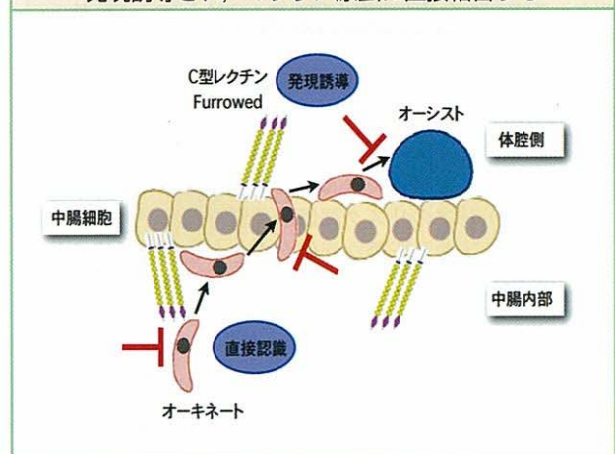


図2：Furrowed タンパク質は、ハマダラカ中腸において吸血依存性にその発現が上昇し、またマラリア原虫オーキネートに直接結合する。Furrowed の人為的な機能阻害はマラリア原虫オーシストの増加を引き起こすことから、Furrowed はその C 型レクチンドメインを介して、マラリア原虫の増殖または分化を抑制していると考えられる。