

課題番号	LS002
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	病原体媒介節足動物におけるトレランス機構の解明
研究機関・ 部局・職名	東京慈恵会医科大学・医学部・教授
氏名	嘉糠 洋陸

1. 当該年度の研究目的

フィラリア、バベシア症、マラリア、西ナイル熱および日本脳炎等の疾患は、蚊やダニ、ハエなどの節足動物によって媒介される病原体由来の感染症であり、畜産動物や人間に対して世界的に大きな脅威となっている。これらの感染性疾患の多くは、その病原体保有動物（リザーバー）が家畜や野生動物であることから、節足動物（ベクター）によって橋渡しされるカテゴリーの人獣共通感染症として注目されている。これら寄生虫やウイルス、細菌の感染拡大の可能性は否定できず、それらに関わる基盤研究の重要性は年々増している。この病原体媒介節足動物を生物学的に俯瞰すると、極めて興味深い生命現象が見出される。それは、病原性微生物を体内に有するにも拘わらず、自身は病気になる点である。当該年度では、ベクターが不顕性感染や潜伏感染を示す状態であることに着目し、モデル生物を駆使してストレス応答性 MAP キナーゼ p38 等によって制御される新規感染防御反応「トレランス」のメカニズムを解析する。

2. 研究の実施状況

「トレランス」による感染防御反応のメカニズムを解析する目的で、ヒト感染性小形条虫 (*Hymenolepis nana*) と中間宿主・甲虫コクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*) による感染実験モデルを確立した。終宿主（ヒト、マウス）から排出された小形条虫卵は中間宿主であるコクヌストモドキの体内に侵入すると、腸内で孵化し、ただちに腸壁を通過し、体腔において擬嚢尾虫へと成長する。擬嚢尾虫は終宿主への感染性をもつが、驚くことに宿主昆虫の体内から排除されることはない。擬嚢尾虫感染自体は中間宿主に致死を誘導しない。この寄生虫-昆虫宿主のトレランス状態に関与している節足動物遺伝子を明らかにするため、甲虫遺伝子の RNAi スクリーニングによる逆遺伝学的アプローチを実施した。コクヌストモドキは dsRNA インジェクションによる RNAi が極めて鋭敏に作用することが知られている。dsRNA インジェクションによる遺伝子機能低下個体に小形条虫を直接摂食させ、10 日後に小形条虫の体腔に存在する擬嚢尾虫をカウントするという遺伝子の評価系を構築した。現在までに昆虫の生体防御機構に関与する Toll, IMD, JAK/STAT, JNK などのシグナル伝達経路、RNAi に関与する遺伝子群 (*Dicer-2* 等)、ストレス誘導性 MAPK 経路 (p38 等) をターゲットにおよそ 50 種類の遺伝子のスクリーニングを実施した。その結果、JAK/STAT 経路に関与する *Hopscotch* や *STAT* 遺伝子の機能低下により、小形条虫感染によりコクヌストモドキが初めて致死を示すことが明らかになった。つまり、JAK/STAT 経路は寄生虫感染による宿主トレランスをコントロールする役割を持つことが示唆された。小形条虫の侵入により、損傷した腸壁の細胞によるデンジャーシグナルが発せられ、それを受けて全身での免疫力亢進に JAK/STAT 経路が寄与する仕組みを想定している。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計5件</p>	<p>1. Bando H, Okado K, Guelbeogo WM, Badolo A, Aonuma H, Nelson B, Fukumoto S, Xuan X, Sagnon N, Kanuka H. "Intra-specific diversity of <i>Serratia marcescens</i> in <i>Anopheles</i> mosquito midgut defines <i>Plasmodium</i> transmission capacity." <i>Scientific Reports</i> 3: 1641 (2013)</p> <p>2. Takeishi A, Kuranaga E, Tonoki A, Misaki K, Yonemura S, Kanuka H, Miura M. "Homeostatic epithelial renewal in the gut is required to dampen a fatal systemic wound response in <i>Drosophila</i>." <i>Cell Reports</i> 3(3): 919-930 (2013)</p> <p>3. Nelson B, Freisinger T, Ishii K, Okado K, Shinzawa N, Fukumoto S, Kanuka H. "Activation of Imd pathway in hemocyte confers infection resistance through humoral response in <i>Drosophila</i>." <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 430(3): 1120-1125 (2013)</p> <p>4. Saiki E, Nagao K, Aonuma H, Fukumoto S, Xuan X, Bannai M, Kanuka H. "Multivariable analysis of host amino acids in plasma and liver during infection of malaria parasite <i>Plasmodium yoelii</i>." <i>Malaria J</i> 12: 19 (2013)</p> <p>5. Badolo A, Okado K, Guelbeogo WM, Aonuma H, Bando H, Fukumoto S, Sagnon N, Kanuka H. "Development of an allele-specific, loop-mediated, isothermal amplification method (AS-LAMP) to detect the L1014F <i>kdr-w</i> mutation in <i>Anopheles gambiae</i> s. l." <i>Malaria J</i> 11: 227 (2012)</p> <p>(掲載済み一査読有り) 計5件</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計5件</p>	<p>Erisha Saiki, Kenji Nagao, Shinya Fukumoto, Makoto Bannai, Hirotaka Kanuka "Amino acid-related host nutrition dynamics during malaria infection"第 14 回日韓寄生虫学セミナー(宮崎)平成 24 年 5 月 23-24 日</p> <p>Kiyoshi Okado, Hirotaka Kanuka "Odor-based contagious transmission of pathogen by <i>Drosophila melanogaster</i>"第 10 回日本ショウジョウバエ研究集会(東京)平成 24 年 10 月 13-15 日</p> <p>Erisha Saiki, Kenji Nagao, Shinya Fukumoto, Makoto Bannai, Hirotaka Kanuka "Amino acid-related host nutrition dynamics during malaria infection"Keystone マラリア国際会議(米国)平成 25 年 1 月 20-25 日</p> <p>嘉糠洋陸、伴戸寛徳、岡戸清、Wamdaogo M. Guelbeogo、Athanasie Badolo、青沼宏佳、福本晋也、N' Fale Sagnon「非共生細菌の表現型揺らぎが規定するベクター・寄生虫間相互作用」第 82 回日本寄生虫学会(東京)平成 25 年 3 月 29-31 日</p> <p>齊木選射、長尾健児、福本晋也、坂内慎、嘉糠洋陸「マラリア原虫感染時の宿主血中アミノ酸インフォマティクス」第 82 回日本寄生虫学会(東京)平成 25 年 3 月 29-31 日</p> <p>専門家向け 計5件</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	<p>該当無し</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>内閣府 最先端・次世代研究開発支援プログラム 寄生虫系3課題合同 HP "寄生虫感染症制御への新しいタクティクス" http://jikei-tropmed.jp/nextindex.html</p>

様式19 別紙1

国民との科学・技術対話の実施状況	本事業について、寄生虫学関連3課題間(帯畜大・西川義文准教授、三重大・岩永史朗准教授)で「高大連携やスーパーサイエンススクールの枠組みを活用し、高校生を対象とする研究アウトリーチ活動」について以下のように協力し実施した。 ・帯広畜産大学オープンキャンパス講演会 平成24年7月28日(北海道帯広市) 参加者:30名(高校生とその父兄)
新聞・一般雑誌等掲載計3件	読売新聞 平成24年7月13日付「蚊に刺されないための防御策」 朝日新聞 平成25年3月6日付「季節外れの蚊」 日本経済新聞 平成25年3月8日付「マダニがウイルス媒介 新感染症、国内でも死者」
その他	該当無し

4. その他特記事項

国立大学法人 帯広畜産大学 原虫病研究センターならびに東京慈恵会医科大学 熱帯医学講座スタッフ等の協力により、本プログラムを推進している。

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	134,000,000	64,600,000	34,700,000	34,700,000	0
間接経費	40,200,000	19,380,000	10,410,000	10,410,000	0
合計	174,200,000	83,980,000	45,110,000	45,110,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	23,561,710	34,700,000	0	58,261,710	58,229,270	32,440	0
間接経費	6,035,402	10,410,000	0	16,445,402	14,548,265	1,897,137	0
合計	29,597,112	45,110,000	0	74,707,112	72,777,535	1,929,577	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	41,363,230	病原体定量解析関連機器、分子生物学実験機器、試薬
旅費	2,174,312	研究打ち合わせ、学術講演、学会参加旅費
謝金・人件費等	12,923,825	ポストドクトラルフェロー及び臨時研究職員人件
その他	1,767,903	印刷費、論文掲載料、国民との対話(出張講義)費用
直接経費計	58,229,270	
間接経費計	14,548,265	
合計	72,777,535	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
バイオハザード対策 用キャビネット	ダルトンNSD- IIA2-1200A	1	1,608,600	1,608,600	2012/5/17	東京慈恵会医科大 学
超微量パーソナル分光 光度計	NanoDrop Lite	1	926,100	926,100	2012/5/17	東京慈恵会医科大 学
共焦点レーザー顕微 鏡SP5用超高速ハイフ リットディテクター	Leica HyD	1	6,825,000	6,825,000	2012/5/21	東京慈恵会医科大 学
顕微鏡用高感度・高 速冷却モノクロデジタル カメラ	Leica DFC365FX	1	2,539,162	2,539,162	2012/5/21	東京慈恵会医科大 学
マウス飼育用アイソ ラック	オリエンタル技研 MS-7-12-84	2	2,310,000	4,620,000	2012/7/27	東京慈恵会医科大 学
卓上型バイオロジカ ラセーフティキャビ ネット	日本エアータック BHC-T700IIAI	1	1,018,500	1,018,500	2012/7/27	東京慈恵会医科大 学
マルチモードプレート リーダー	EnSpirre	1	5,995,500	5,995,500	2012/9/6	東京慈恵会医科大 学
マクロ共焦点レー ザー顕微鏡	ライカTCS LSI	1	9,975,000	9,975,000	2012/12/26	東京慈恵会医科大 学