

デング熱媒介蚊 (*Aedes aegypti*) を対象とした共生細菌ボルバキアの検出

愛媛大学大学院 学生会員 ○犬飼達也, 愛媛大学大学院 非会員 Maria Angenica F. Regilme,
愛媛大学大学院 非会員 Thaddeus M. Carvajal, De La Salle University 非会員 Divina Amalin,
愛媛大学大学院 正会員 渡辺幸三

1. はじめに

熱帯地域では、蚊によって引き起こされるデング熱等の蚊媒介感染症が流行している。感染症を減らす方法として、ボルバキアという昆虫共生細菌が近年注目を集めている。ボルバキアは蚊の母から子へと母系感染することが知られている。また、マラリアやデング熱を引き起こす感染症を制御する役割を持っている。具体的には、ボルバキアを媒介している蚊がデングウイルスに感染した場合、ウイルスは蚊の体内で増殖せず唾液腺までウイルスが拡がらないため、ヒトを吸血した際にも感染しない (Moreira et al. 2009)。これらの性質を利用した、ボルバキアを人工的に感染させたネッタイシマカの放出によるデング熱抑制がオーストラリア等で行われており、主に熱帯地域での蚊媒介感染症被害の減少が期待されている (Yixin et al. 2015)。

デング熱等を媒介するネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) へのボルバキアの自然感染が確認された研究は世界的に見ても数例であり、情報量が著しく少ない。ボルバキアの自然感染の確認とそれに伴う感染率の推定がされれば、制御戦略の設計と実施に役立つと考えられる。

そこで本研究では、フィリピンにおけるボルバキアのネッタイシマカへの自然感染の証拠をつかむとともに、対象地域におけるボルバキアの自然感染率を推定することを目的として、自然環境から採取されたネッタイシマカ成虫から、ボルバキアをPCR法により検出した。

2. 方法

ネッタイシマカのサンプリングはフィリピン・マニラで行い、428 地点から 442 個体を採取した。モスキートトラップを各地点に設置し、2 日間稼働させたのちに回収することで採取した。採取したサンプルは、phenol-Chloroform DNA extraction を用いて DNA 抽出を行った。抽出した DNA から *wolbachia* surface protein (wsp) general primers (wsp81F と wsp691R) 及び 16s *wolbachia*-specific screening primers (WSpecF と WSpecR) を使用し、ボルバキア特異の遺伝子領域の増幅を試みた。その後、増幅が見られた個体のみシーケンス解析および BLAST 検索を行い、増幅された遺伝子領域がボルバキアに由来する配列であったかを判定した。

3. 結果

フィリピンで採取された 442 個体中、wsp 領域では 7 個体 (1.6%)、16s 領域では 15 個体 (3.4%) からボルバキア DNA の増幅が見られた。いずれかのプライマー領域で増幅が見られた 16 個体のうち、両方のプライマー領域で増幅が見られたのは 5 個体であった。検出されたボルバキアの配列データを基に、それぞれのプライマー領域の分子間系統樹を作成した結果、wsp 領域では 2 つのグループに分かれており、グループ間の平均塩基置換率は 0.1 を上回った (図 1)。また、16s 領域でも同様に大きく 2 つにグループ分けされていた。これらグループ間の平均塩基置換率は 0.02 だった (図 2)。

4. 考察

対象地域におけるネッタイシマカのボルバキアの自然感染を確認することに成功した。442 個体中 16 個体 (3.6%) の個体からボルバキアの感染が確認された。過去にフィリピン・メトロマニラで行われたボルバキアの検出実験ではボルバキアの自然感染率が 13.2% と報告されている (Thaddeus Carvajal et al. 2018)。本研究が明らかにしたボルバキア自然感染率は低いことから、調査対象とした地域ではネッタイシマカ自然集団へのボルバキアの感染が広がっておらず、デング熱等の感染症を抑制する効果は発揮できていないと考えられる。

wsp 領域が 16s 領域に比べて検出率が低かった理由の一つとして、領域の対象となっている細胞組織の違いが考えられる。wsp 領域はボルバキアの体表面のたんぱく質を対象としているのに対し、16s 領域は 16s リボソーム RNA を対象領域としている。この結果から、16s リボソーム RNA は検出が容易であることが分かった。

フィリピンで検出されたボルバキア集団は二つのグループに分かれていた。また、wsp 領域と 16s 領域の平均塩基置換率を比較すると、wsp 領域 (0.1 以上) は 16s 領域 (0.02) に比べて高く、遺伝的多様性が高いことを示している。これは、wsp 領域の方が 16s 領域より突然変異が頻繁に生じているためと考えられる。また、2つのプライマー領域で増幅が見られた 5 個体 (AAML57, AAML177, AAML240, AAML258, AAML259) を図 1 および図 2 の分子間系統樹上で確認すると、AAML57, AAML258, AAML259 が系統樹の上側、AAML177, AAML240 は系統樹の下側に位置する。これらは類似するパターンを示しており、2つのボルバキアにおいて wsp 領域の塩基配列が近ければ、16s 領域の塩基配列も近くなる傾向にあることが分かった。

5. おわりに

フィリピンのネッタイシマカ 442 個体中 16 個体からボルバキアは検出され、ネッタイシマカのボルバキア自然感染を確認することに成功した。また、ボルバキアの自然感染率はフィリピンの対象地域で 3.6% という値を示した。これは先行研究に比べて低い。分子間系統樹の結果から、対象地域のボルバキアの遺伝的多様性は高いことが分かった。また、wsp 領域のグループ間の塩基置換率は 16s 領域のグループ間の塩基置換率より高い数値を示しているため、16s 領域より突然変異が起りやすい領域であることも示唆された。wsp 領域と 16s 領域の両領域で検出されたボルバキア株の分子間系統樹の位置づけは、これら 2 領域の関連性を裏付ける証拠となった。

参考文献

1. Moreira et al. (2009) Nature 476 (7361). 450-U101
2. Yixin et al. (2008) Plos Neglected Tropical Diseases 9 (6), e0003894
3. Teo et al (2018) Tropical Biomedicine 34(3): 583-597
- Thaddeus Carvajal et al. (2016) 10.1603/ICE.2016.105444

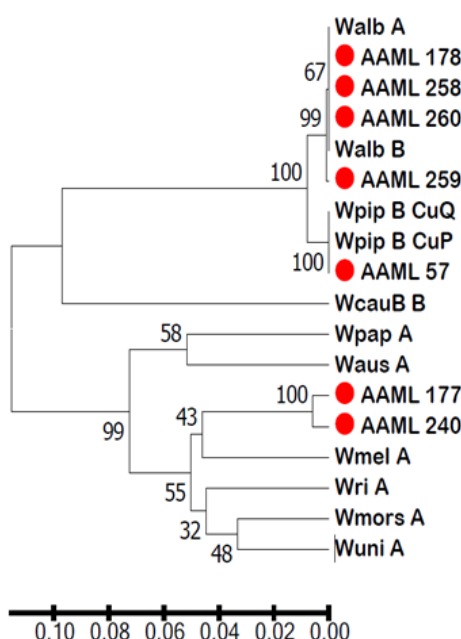


図 1. wsp 領域の分子間系統樹

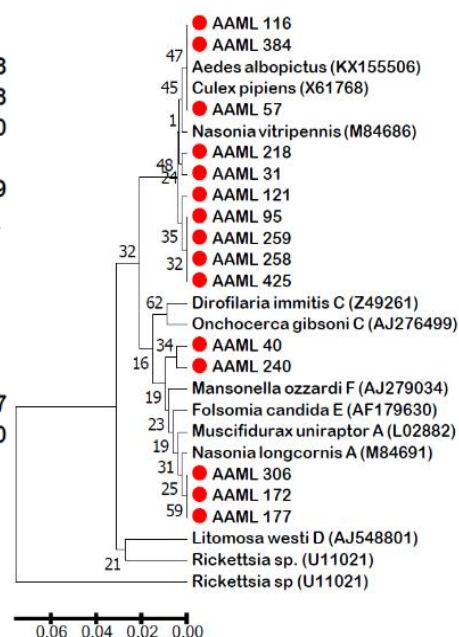


図 2. 16s 領域の分子間系統樹