

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2014.02) 14巻1号:60～61.

平成23.24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題
14)次世代シーケンサーを用いたヒト寄生性テニア科条虫の宿主特異性規定因子の探索

研究代表者 柳田 哲矢

14) 次世代シーケンサーを用いたヒト寄生性テニア科条虫の宿主特異性規定因子の探索

研究代表者 柳田 哲矢

[目的]

寄生虫の中には、限られた宿主にしか寄生しないものがある。この「宿主特異性」は、多様な生活様式を持つ寄生虫達の基盤的な特性である。また、感染経路や病害性を規定することから、公衆衛生的にも医学的にも重要な性質である。一方で、どのようにして1対1の密接な相互関係が生み出されたのかは、生物進化の観点からも興味深い。この宿主特異性は、古くより研究者の興味を引いてきた課題ではあるが、寄生虫と宿主両方の持つ因子が複雑に絡み合うことで規定されるため、規定因子の特定は困難である。

テニア科に属し、ヒトの消化管に寄生する無鉤条虫とアジア条虫は、それぞれウシとブタを中間宿主とする明確な宿主特異性を持つ。両種とも衛生状態の良くない発展途上国を主に蔓延しているが、日本国内でも、2011年にブタの生レバーを主な感染源とするアジア条虫の集団感染例が報告されている¹⁾。この2種は、進化的に非常に近縁であり、種間交雑を起こすことが知られている^{2), 3)}。種間交雑により生まれた個体およびその子孫（以降、交雑体と称する）がウシとブタのどちらを中間宿主とするのかは明らかになっていないが、ゲノムの混ざり具合によって寄生相手が変わると予想される。そこで本研究では、無鉤条虫とアジア条虫ならびにその交雑体のゲノム情報を比較することによって、宿主特異性を規定する遺伝因子の探索を試みた。

[方法]

ゲノム解析に用いた次世代シーケンサー (Illumina: HiSeq) は、3 μ g 以上の DNA を必要とする。そのため、まず保有している無鉤条虫とアジア条虫ならびに交雑体のゲノム DNA 溶液から、解析に供するサンプルの選定を行った。予算上の制限から、2サンプルを選定し、解析対象とした。解析は、北海道システムサイエンス株式会社へ外注した。塩基配列データは、Paired-End 法 100 塩基読み取りによって取得した。1レーンで2サンプル解析し、得られたリードデータはインデックスタグを用いて検体ごとに振り分けた。

[結果]

世界各地で採集した寄生虫標本から抽出して冷凍保存していたゲノム DNA 溶液は、DNA の総量が 3 μ g に満たないものが多く、十分量あるものについても DNA の断片化が起きるなどしてゲノム解析には不適であった。そのため、冷凍保存されていたインドネシア由来の無鉤条虫と、韓国由来の交雑体から新たにゲノム DNA を抽出し、解析に用いた。次世代シーケンサーを用いたゲノム解析の結果、無鉤条虫については約 11Gb、交雑体については 12.5Gb の塩基配列データが得られた。得られた塩基配列データについては、全ゲノム情報が公開されている有鉤条虫の配列データを参照配列とし、比較解析を行っている。

[考察]

宿主特異性を規定する遺伝子群の絞り込みには、純粋な無鉤条虫とアジア条虫、ならびに中間宿主（ウシかブタ）が明らかな交雑体から得られたゲノム情報を比較することが必要になる。しかしながら、本研究で用いた次世代シーケンサーでは解析に最低でも 3 μ g の DNA 量が必要であったため、数多く保有している DNA 溶液を解析に用いることができなかった。今後これらの DNA 標本を利用するためには、より少量の DNA 量で解析を行うことのできる機種を選定が必要になる。

本研究ではまず、インドネシア由来の無鉤条虫と、韓国由来の交雑体の標本から新たに DNA を抽出して解析を行った。純粋なアジア条虫については、台湾由来の寄生虫標本を入手することができたため、今後はこの虫体から新たに DNA を抽出し、解析を行う予定である。また、2013年3月にラオスで行った疫学調査により、交雑体に感染した患者が見つかった。今後は、この患者が住む集落で飼育されているブタとウシそれぞれから交雑体を採取し、比較解析に供することを予定している。なお、得られた塩基配列データについては比較解析を行っている最中であり、現時点では報告に値するだけの結果は得られていない。

本研究による成果は、近縁な寄生虫種間で異なる宿主特異性を規定する因子の新しい探索法として、広く利用できると思われる。

[文 献]

- 1) Yamasaki H : Current status and perspectives of cysticercosis and taeniasis in Japan. *Korea. J. Parasitol.* 51, 19-29 (2013)
- 2) Yamane K, Suzuki Y, Tachi E, Li T, Chen X, Nakao M, Nkouawa A, Yanagida T, Sako Y, Ito A, Sato H and Okamoto M : Recent hybridization between *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. *Parasitol. Int.* 61, 351-355 (2012)
- 3) Yamane K, Yanagida T, Li T, Chen X, Dekumyoy P, Waikagul J, Nkouawa A, Nakao M, Sako Y, Ito A, Sato H and Okamoto M : Genotypic relationships between *Taenia asiatica*, *Taenia saginata* and their hybrids. *Parasitology* 140, 1595-1601 (2013)