

(第6号様式)

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	REGILME, Maria Angenica Fulo
審査委員	主査 渡辺 幸三 副査 三宅 洋 副査 北村 真一

### 論文名

POPULATION GENETIC APPROACH IN ARTHROPOD VECTORS AND ITS MICROBIOME (節足動物の集団遺伝学的アプローチとマイクロバイオーーム)

### 審査結果の要旨

ベクター(媒介生物)感染症は、環境中のベクター-宿主-病原体の複雑な相互作用によって引き起こされる。蚊やマダニなどの節足動物の媒介によりヒトや動物に病原体が感染する。最も発生頻度の高い節足動物ベクターは蚊とマダニで、これらは世界中に分布するベクター感染症の上位10種を占めている。本研究では、蚊とマダニを対象に、集団遺伝解析を使った移動行動の解明と共に、感染している細菌に関する遺伝学的な調査を行った。

本学位論文の構成は以下の通りである。本論文の第1章では、蚊とマダニが媒介する感染症に関する研究背景をまとめている。第2章は、フィリピン・マニラ市において、道路がデング熱媒介蚊ネッタイシマカの地域間移動を阻害する効果を集団遺伝学的手法で検証している。第3章は、新潟県内における宿主哺乳動物が異なるマダニ2種の空間集団遺伝構造を比較している。第4章は、フィリピン・マニラ市内に生息するネッタイシマカとヒトスジシマカに自然感染している昆虫共生細菌ボルバキアの感染率と系統学的考察を行っている。第5章では、標高勾配に沿った複数種のマダニの集団遺伝構造と病原細菌リケッチアの感染率の関係を考察している。最後に、第6章では本論文で得られた知見がまとめられている。

本研究で得られた主な知見は以下の通りである。

- マニラの1km×2kmの小さい範囲を対象にして200m幅の幹線道路で採取した376個体のネッタイシマカ成虫から抽出したDNAを使って、種内個体間で高いDNA多型が見られやすいことが知られている11領域のマイクロサテライトマーカーを使ったDNA多型実験を行った。その結果、感染道路を跨ぐ蚊の移動が統計的に制限されていることが分かった。また、DNA多型データに基づく起源生息地を推定した結果、起源生息地から幹線道路を渡って採取された蚊は26個体(6.9%)に止まることも分かった。このことから、幹線道路を横断する蚊の飛翔が妨げられていることが明らかになった。病原性ウイルスに感染した蚊がある地

域で発生した場合に、幹線道路を超えた飛翔は制限されることを前提に、殺虫剤の散布計画を立てるなども可能になる。

- 新潟県内のヤマトマダニおよびキチマダニの2種類のマダニ集団遺伝構造を調査した。新潟県内17地点から収集したヤマトマダニ成虫307個体およびキチマダニ成虫220個体の遺伝子を解析した。ミトコンドリアDNAのcox1配列を用いた地域集団間の遺伝距離および分子分散分析(AMOVA)解析から、ヤマトマダニからは地域集団間の有意な遺伝的分化が検出されたが、キチマダニからは検出されなかった。ヤマトマダニの宿主哺乳動物は移動距離の小さな小動物が多く、キチマダニの宿主哺乳動物は移動距離の大きな大動物が多い。これらマダニ2種の宿主哺乳動物の移動生態の違いが、新潟県内におけるマダニ2種の集団遺伝構造の違いとして表れていると考えられた。
- フィリピンのマニラの183世帯から収集したヒトスジシマカ(*Aedes albopictus*)成虫12個体とネッタイシマカ(*Aedes aegypti*)359個体、11世帯の17個の水容器から採取したシマカ属幼虫(n=509)から、ボルバキアをPCRで検出した。その結果、ネッタイシマカ成虫359個体中3個体(0.84%)とヒトスジシマカ成虫12個体中12個体(100%)がボルバキア陽性であり、幼虫はすべてボルバキア陰性(0/509;0%)であった。ミトコンドリアcox1マーカーによる系統解析の結果、興味深いことに、1世帯で捕獲されたボルバキア陽性の3個体は、同じ母個体から生まれ、その母個体からボルバキアが母系感染したことを示している。この結果は、実験室に確認されていたボルバキアの母系感染が、野外蚊においても起きてることを示す初の証拠となった。
- 新潟県内のヤマトマダニおよびキチマダニを対象に、標高勾配に沿った病原体リケッチアの感染率とともにこれら2種の集団遺伝構造の関係を検討した。ヤマトマダニ成虫347個体とキチマダニ成虫245個体について、17kDA、gltA、rOmpA、rOmpBプライマーを用いてリケッチアの有無を、ミトコンドリアcox1マーカーを用いて集団遺伝構造をそれぞれ分析した。リケッチア感染率はヤマトマダニで46/347(13.26%)、キチマダニで15/243(6.17%)であった。ヤマトマダニは標高勾配に沿って、地域集団間が有意に遺伝的に分化し、さらにリケッチア感染群と非感染群の平均標高に有意差が見られた。このことは、標高勾配に沿った地域間交流が制限された結果として、リケッチア感染率が標高ごとに異なっていることを説明している。他方、キチマダニは、標高勾配に沿った地域間交流は活発で、リケッチア感染率は標高間で違いが見られなかった。これらのことは、ダニ媒介生物とその病原体であるリケッチア、および標高などの環境要因との関係を理解する上で有用な情報となる。

学位論文の公聴会は令和4年8月18日に開催され、続いて開催された学位論文審査会において慎重に審議を行った。審査の結果、本論文はベクター生物である蚊とマダニと移動生態と感染している細菌に関する有用な知見を提案していること、論文の内容の一部が3つの査読付きジャーナル論文が既に出版されていることなどから、社会的および学術的に重要な貢献をしていると判断でき、博士(工学)を授与するに値すると全員一致して判定した。