

テーマ

ヌカカ刺咬後の皮膚障害に関する微生物免疫学的調査研究

研究者

松葉隆司, 尾鶴亮, 藤井潤 (鳥取大・医・細菌学)

概要

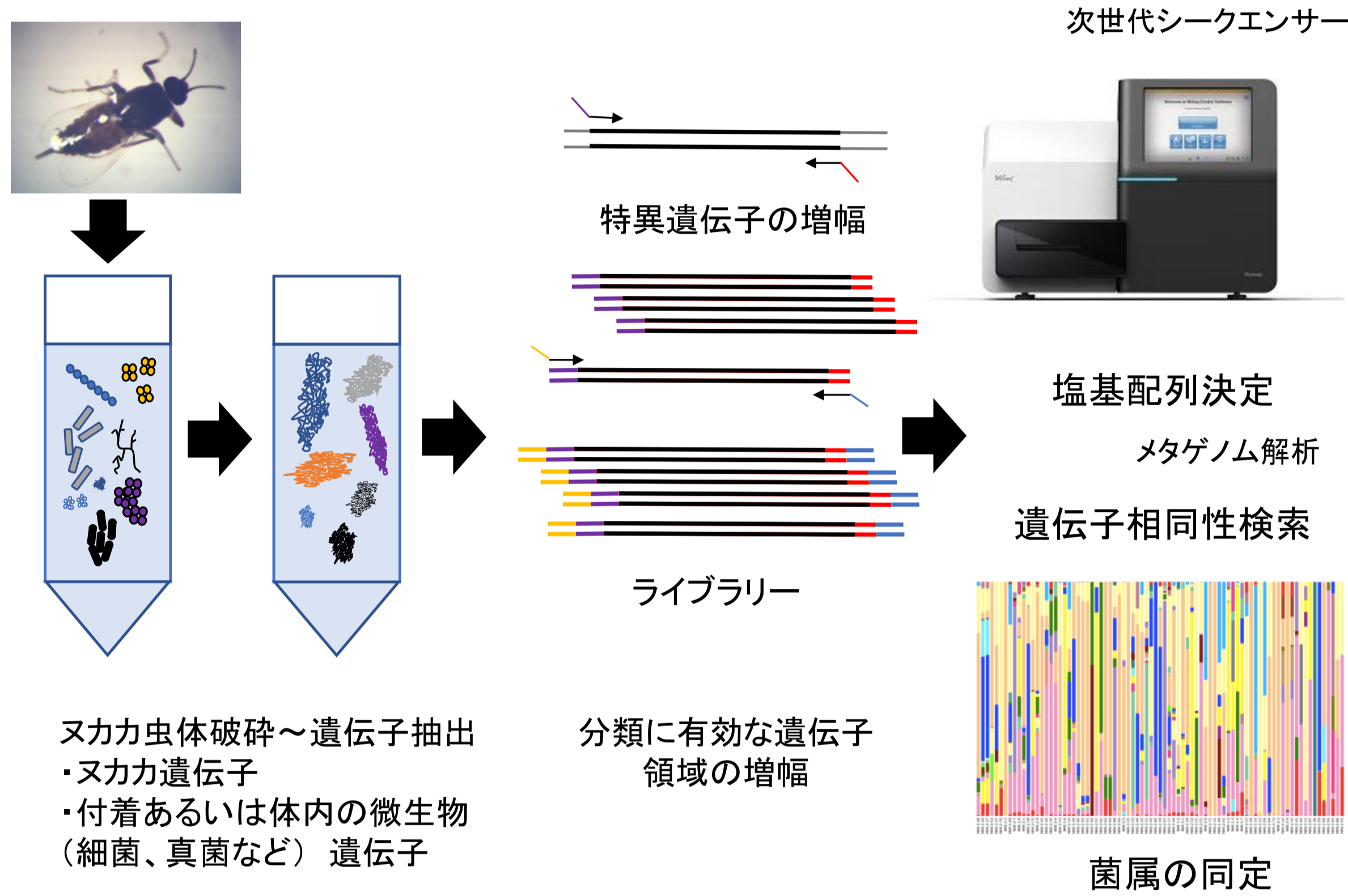
米子市の弓ヶ浜半島では、吸血性ヌカカによる住民の健康被害が毎年出ている。ヌカカに咬まれた皮膚に生じる腫れや痒みは、ときに激しい炎症や皮膚傷害の拡大を起こす。しかしながら、原因ヌカカ種、発生場所や炎症症状拡大原因などについて、これまで詳しく調べられていない。

症状拡大原因に関してヌカカ保有細菌叢やヌカカ成分との関連を調べるために、本年度は以下を行った。

- 1) ヌカカ保有細菌叢のメタゲノム解析で、どのような細菌を保有しているのか調べ、皮膚障害との関連を解析
- 2) 原因ヌカカ種識別、とくに発生源となる幼虫生息場所検索のための遺伝子同定法開発

研究内容

ヌカカ虫体の保有細菌叢を遺伝子レベルで調べる



ヌカカ: ハエ目ヌカカ科, 別名「干拓虫」
体長1.5 mm～2.0 mm程度の小型昆虫
一部の種のメスは刺咬性及び吸血性をもつ
刺咬種に関する詳細は不明
弓ヶ浜半島で5月下旬～8月に刺咬被害多発

ヌカカ成虫の形態学的識別

	トクナガクロヌカカ♂	トクナガクロヌカカ♀	イソヌカカ
体長	1.5 mm～2.0 mm	1.5 mm～2.0 mm	トクナガより小さめ
体の色	黒	褐色	薄茶色
腹部の形	長い	アーモンド形	丸い
尾部	丸い	尖っている(産卵管)	丸い
触覚	枝分かれ	数珠つなぎ	数珠つなぎ
翅(脈)			全体は暗色 白い斑点がある



トクナガクロヌカカ♂ トクナガクロヌカカ♀ イソヌカカ

用語説明

次世代シーケンサー: 従来の遺伝子塩基配列解析能力が大幅に向上した高速遺伝子塩基配列解析装置
メタゲノム: 生物の遺伝子全体を意味する「ゲノム(genome)」に、「超越」を意味するメタ(meta-)を融合した造語。
微生物群のゲノムを培養することなく網羅的解析することをメタゲノム解析と呼ぶ。
メタゲノム解析: 多様な微生物のDNAを混合物として抽出し、このDNA混合物の塩基配列を解読することで、試料中に含まれる微生物(培養できない微生物を含む)の種類やその存在比率を推定することが可能。

ヌカカ個体に、化膿をおこす原因となる細菌が存在(付着?)

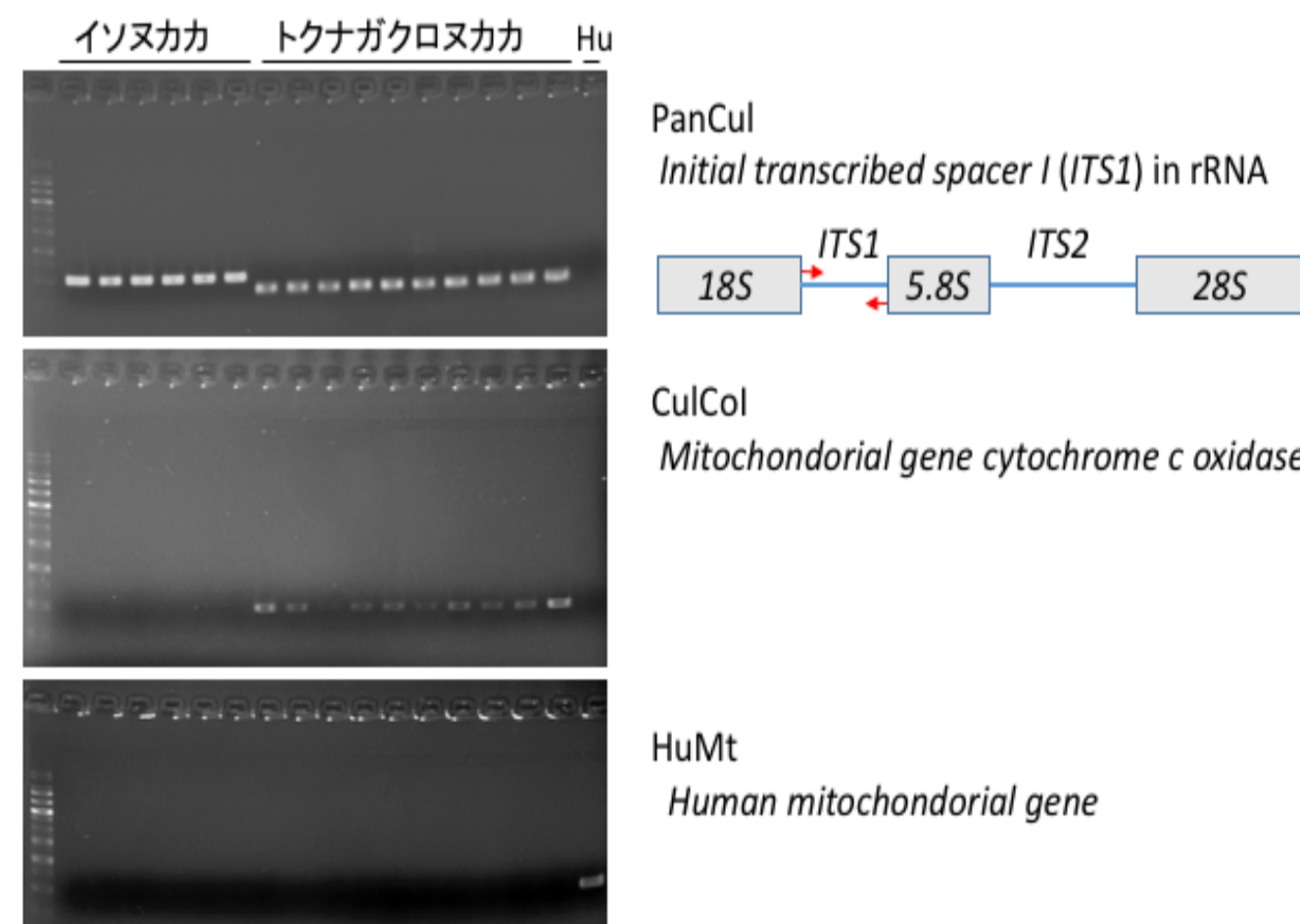
刺咬後に掻きむしると化膿の可能性上がるかもしれない。

黄色ブドウ球菌(Sa)検出率8.6%(7/81) トクナガクロヌカカ81匹解析からの抜粋

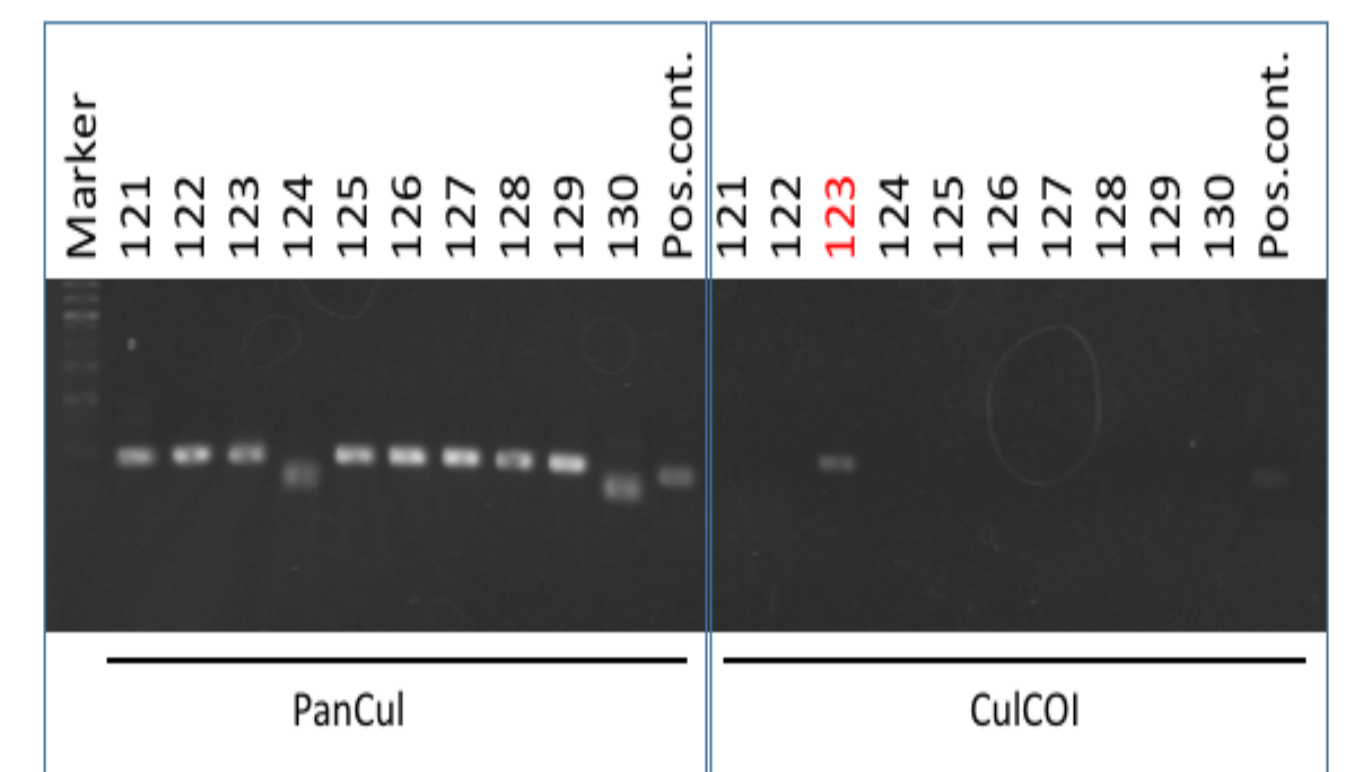
ヌカカ採取日	DNA 調製日	JY_ID	18S rRNA 増幅 (PanCul)	16S rRNA 増幅 (V34)	Miseq_ID
ヌカカ♀ 1	150729	151018	NKK1	good	NKK-1-1 Sa_0.5
ヌカカ♀ 2	150729	151018	NKK2	good	NKK-1-2 Sa_1.1
ヌカカ♀ 3	150729	151018	NKK3	good	NKK-1-3
ヌカカ♀ 4	150729	151018	NKK4	good	NKK-1-4 Sa_37.1
ヌカカ♀ 5	150729	151018	NKK5	good	NKK-1-5 Sa_1.3
ヌカカ♀ 6	150729	151018	NKK6	good	NKK-1-6
ヌカカ♀ 7	150729	151018	NKK7	good	NKK-1-7
ヌカカ♀ 8	150729	151018	NKK8	good	NKK-1-8 Sa_1.6
ヌカカ♀ 1	150729	151019	NKK9	good	NKK-1-8
ヌカカ♀ 2	150729	151019	NKK10	good	(-)
ヌカカ♂10	150729	160112		good	NKK-2-60
ヌカカ♂11	150729	160112		good	NKK-2-61 Sa_64.2
ヌカカ♂12	150729	160112		good	NKK-2-62
ヌカカ♂13	150729	160112		good	NKK-2-63
ヌカカ♀40	150709	160115		good	NKK-2-26 Sa_0.6
ヌカカ♀41	150709	160115		good	NKK-2-27 Sa_0.6
ヌカカ♀42	150709	160115		good	NKK-2-28
ヌカカ♀43	150709	160115		good	NKK-2-29
ヌカカ♀44	150709	160115		good	NKK-2-30
ヌカカ♀45	150709	160115		good	NKK-2-31
ヌカカ♀46	150709	160115		good	NKK-2-32 Sa_1.8
ヌカカ♀47	150709	160115		weak	NKK-2-33

2016年採取されたヌカカ成虫の遺伝子レベルでの識別とヒト遺伝子成分検出の試み

共通祖先が遠いほど違う配列部分が増えることを利用して特定遺伝子領域を増幅採取ヌカカからヒト由来の遺伝子増幅はされなかった(=ヒト吸血の痕跡なし)。



ヌカカ幼虫生息場所を特定するための遺伝子同定法の試み



材料: 米子市の土壌から分離された微小幼虫より抽出したDNA

増幅遺伝子: 成虫同様のPanCul(ITS1) および CulCOI (cytochrome c oxidase I)

#123増幅は、ヌカカ以外の昆虫由来遺伝子であった。→プライマー改良必要

共同研究者

青木薫, 伊達勇介, 藤井貴敏 (米子高専)
山岸潤也 (北海道大・人獣センター)

今後の課題

- 1) 刺咬ヌカカ種を特定する。
- 2) 住民被害の原因ヌカカ種から、症状拡大原因となる成分を探る。

応用分野

疾病の原因微生物解明、予防・治療薬品開発

連絡先

松葉隆司 鳥取大学医学部・感染制御学講座・細菌学分野・講師
連絡先(matausbat@med.tottori-u.ac.jp TEL 0859-38-6073)