

No.6 重点感染症シリーズ

感染症媒介蚊と遺伝子ドライブ

「瓜の蔓に茄子はならぬ」「蛙の子は蛙」「鳶の子は鷹にならず」.....親の特徴が子へ受け継がれる遺伝現象は古来経験的に知られていた。メンデル遺伝では、子は対をなす親の染色体のどちらか一方だけを継承する。1866年にグレゴール・メンデル（Gregor Mendel）が発見した遺伝の一般規則は現在では中学理科の教科書でも扱われている。

本稿では、前節で紹介したボルバキア感染蚊とはまた異なるアプローチである「感染症媒介蚊の遺伝子ドライブ（Gene drive）」について概説する（Table 1）。

1. 遺伝子ドライブで個体数を減らす

遺伝子工学の技術を用いて改変した特定の遺伝子を偏って遺伝させ、集団の遺伝構成を制御する「遺伝子ドライブ」。メンデルの法則によれば、遺伝子を改変しても野生型と交配すると必ず対立遺伝子が交雑する。したがって交配を繰り返すうちに改変遺伝子が希釈されてしまう（Fig. 1 (a)）。ところが遺伝子ドライブを用いると、遺伝子改変型と野生型が交配しても必ず改変遺伝子をもつ子が生まれる（Fig. 1 (b)）。この交配を

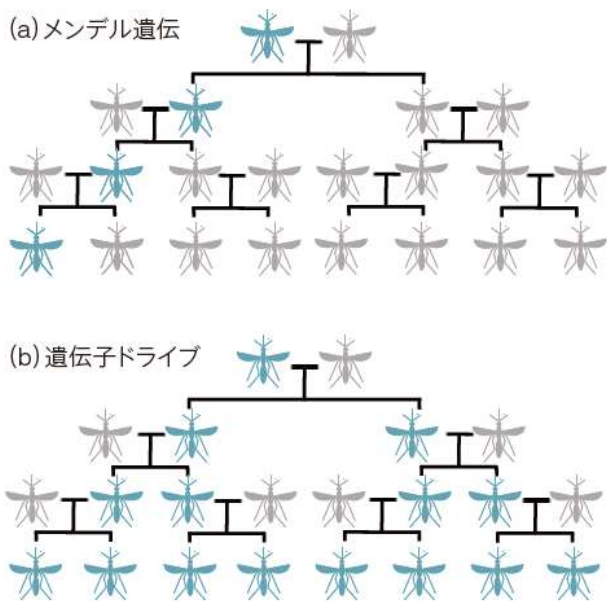


Fig. 1 改変遺伝子を持つ蚊と野生型蚊の交配パターン
メンデル遺伝に基づく交配(a)では変異遺伝子を持つ青い蚊は世代を重ねるにつれて減少するが、遺伝子ドライブ(b)では子孫の蚊はすべて変異遺伝子を持つ青い蚊となる。

繰り返すと、ついには交配する野生型がいなくなり、遺伝子改変型が100%になる[1]。近年この遺伝子ドライブを用いて特定の蚊の個体数を根絶あるいは激減させようという研究開発が盛んになってきた。

Table 1 から、インペリアル・カレッジ・ロンドンを中心とした英国のグループと UC サンディエゴ校を中心とした米国のグループがこの研究を先行しているように見える。

インペリアル・カレッジ・ロンドン

2003 年、インペリアル・カレッジ・ロンドン（ICL）のオースティン・バート（Austin Burt）、アンドレア・クリサンティ（Andrea Crisanti）らが開始した「ターゲット・マラリア」プロジェクトは、遺伝子ドライブによって蚊の地域個体群を絶滅させようという試みだ。2011 年には、実地試験を視野に、ブルキナファソやウガンダ、マリのパートナー機関と正式に連携し、昆虫の飼育場や屋外実験場を設立した。2018 年、ブルキナファソ政府はターゲット・マラリアに対し、「不妊遺伝子」を組み込んだオスのガンビアハマダラカ（*Anopheles gambiae*）の個体群を自然放出することを承認した。

2018 年、クリザンティ、バートらは、CRISPR を用いてケージ内のガンビアハマダラカの個体群を 7 世代で全滅させることに成功。これは遺伝子ドライブで生物種を絶滅させた最初の事例となった[2-3]。

UC サンディエゴ校

2015 年、UC サンディエゴ校のヴァレンティノ・ガンツ（Valentino Gantz）とイーサン・ビーア（Ethan Bier）は、CRISPR/Cas9 を利用した MCR 法（Mutagenetic Chain Reaction）でショウジョウバエにおける高効率遺伝子ドライブを実証した[4-5]。

ゲノム上の標的部位が Cas9/gRNA で切断され（Fig. 2 A）、相同性組換え修復（Homology Directed Repair; HDR）によって Cas9 と gRNA が発現するコンストラクト（標的細胞や標的組織に移植される人工的な核酸セグメント）を繋げるカセットがプラスミドからゲノム上の標的配列に挿入（ノックイン）される（Fig. 2 B-C）。ゲノムに挿入されたカセットから Cas9 と gRNA が発現（Fig. 2 D）、もう一方の染色体上にある対立遺伝子を切断、自らのカセットをノックインし続ける（Fig. 2 E-F）。こうして変異はホモ接合となる[6]。この MCR 法を用いてショウジョウバエの遺伝子に改変遺伝子を挿入したところ、97%の効率で連鎖的に伝播した。

同年、ガンツらは蚊でも MCR 法の有効性を実証した[7]。UC アーバイン校の分子生物学者アンソニー・ジェームス（Anthony James）らとの共同研究で、ハマダラカの遺伝子进行操作して作出したマラリア耐性蚊により 99.5%の子孫に耐性遺伝子を継承させることに成功した。

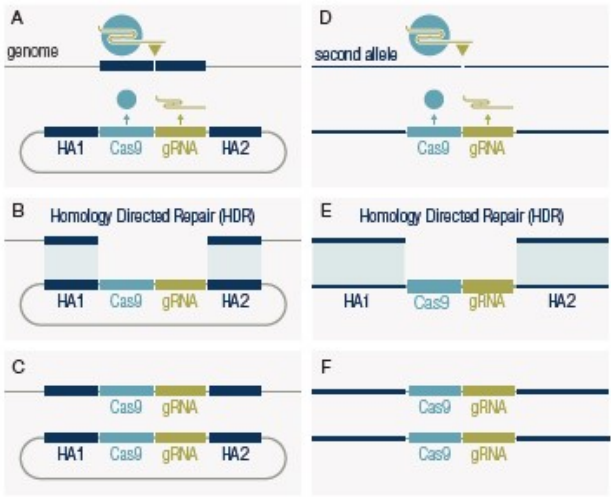


Fig. 2 MCR 法による遺伝子ドライブ[5]
ゲノム上の標的部位を Cas9/gRNA で切断（A）、HDR によってプラスミドの Cas9 と gRNA がゲノムの標的配列にノックイン（B-C）。ゲノムに挿入されたカセットから Cas9 と gRNA が発現し、もう一方の染色体上にある対立遺伝子を切断（D）、自らのカセットをノックインし続ける（E-F）

ターゲット・マラリア



世界中には3,500種以上の蚊が存在し、そのうち837種がアフリカに生息しているといわれる。マラリア伝播の原因となるのはハマダラカだ。アフリカでのマラリア抑制に向けた新しい遺伝子技術を共同開発するために、アフリカと欧米の研究機関や大学が集まった非営利の国際研究コンソーシアムがターゲット・マラリアである。

大学ベースの研究プログラムとして始まったが、現在ではアフリカ・欧米の科学者、ステークホルダー、規制問題の専門家、プロジェクト管理チーム、リスク評価の専門家、コミュニケーションの専門家といった広範なメンバーが参画するまでに成長した。個々の研究室では、英・環境・食糧・農村地域省（DEFRA）、欧州委員会、米国立衛生研究所（NIH）、ウガンダ国家科学技術評議会（UNCST）、ウガンダ保健省、英ウェルカムトラスト、世界銀行など様々な外部資金を集めながら研究を推進している。

遺伝子ドライブの実現に貢献した
CRISPR/Cas9

DNA二本鎖を切断して任意のゲノム配列を削除・置換・挿入する――。2012年、マックスプランク研究所のエマニュエル・シャルパンティエ（Emmanuelle Charpentier）と UCバークレー校のジェニファー・ダウドナ（Jennifer Doudna）によって報告されたCRISPR/Cas9は、ZFN、TALENに続く第3世代のゲノム編集ツールだ。

2014年、MITのケビン・エスベルト（Kevin Esvelt）が「CRISPR/Cas9で蚊の遺伝子改変」を着想。それまでの標的遺伝子の配列に合わせたタンパク質を作製する必要があったZFNやTALENとは異なり、標的遺伝子に相補的な核酸配列を持つ特異的なgRNAを準備するだけで済む。CRISPR/Cas9を用いる新たなツールの導入により、遺伝子ドライブの効率は格段に高まった。

No.6 重点感染症シリーズ

感染症媒介蚊と遺伝子ドライブ

2. 論文から見た「遺伝子ドライブ蚊」

“遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文の主なキーワードの変遷を Table 2 に示す。10 年前 (c) , 5 年前 (b) , 現在 (a) と論文数の増加もさることながら, 「蚊」や「蚊感染症」に関連するワード (表中で青帯) が頻出している。

また, Scopus 上で“Mosquito”と“Gene Drive”をタイトルに含む論文は 63 報抽出された (感染症以外も含む) 。 Fig. 3 に出版年毎の累積値を示す。CRISPR/Cas9 システムが報告された 2012 年頃を境に論文数の増加に拍車が掛かった様子である。なお, それぞれの論文が対象にしている蚊媒介感染症はマラリアが最多で 54 報, ジカ・デング熱は 22 報である。

次に 63 報それぞれの内容から「CRISPR/Cas9 による遺伝子ドライブ」「遺伝子ドライブ抵抗性」「個体数制御」「数理モデル」「環境 (含規制/倫理)」に分類し, 論文動向を概観した (Fig. 4) 。「環境」に関する論文が近年特に目立つ。

遺伝子ドライブで人為的に遺伝子を改変した生物を自然環境に放出する是非について, 活発に議論されている[8-9]。

2017 年, 米国防高等研究計画局 (DARPA) は国家安全保障の観点から「セーフジーンズ」プログラムを立ち上げた。これは危険な遺伝子

が組み込まれた時など想定外の事態に対していつでも中断・無効化できるような技術開発を目的としたものである。DARPA は遺伝子ドライブを研究する UC サンディエゴ校のオマー・アクバリ (Omar Akbari) ら 7 つの研究機関に研究資金を配賦した[10]。

もう一点特筆したいのが, 近年, “遺伝子ドライブ抵抗性”に関する論文が現れてきたこと。遺伝子ドライブで改変したはずの遺伝子が継承されずに修復される現象が報告されている[11-13]。

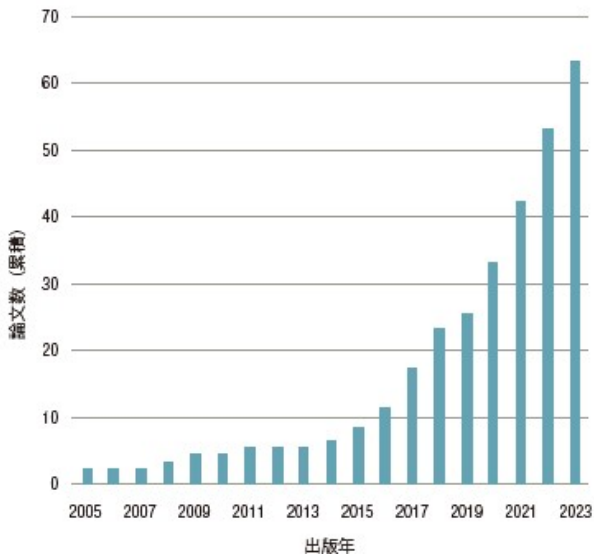


Fig. 3 “蚊”と“遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文数(累積値)
Scopus 2023.12

Table 2 “遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文の主なキーワード
Scopus 2023.12

(a) 2021-2023	(b) 2016-2018	(c) 2011-2013
120 Gene drive technology	62 Genetics	16 Genetics
81 Genetics	54 Animals	11 Animals
77 Gene drive	54 Animal	10 Animal
72 Animals	53 Non human	10 Non human
71 Animal	51 Gene drive technology	9 Controlled Study
⋮	⋮	⋮
37 Malaria	37 CRIPR Cas System	4 Mosquito
⋮ CRISPR Cas System	⋮	4 Drosophila melanogaste
36 Allele	32 CRIPR-CAS Systems	
35 CRIPR-CAS Systems	⋮	
⋮	23 Malaria	
28 Risk assessment	⋮	
27 Mosquito Vector	18 Mosquito	
26 Mosquito Vectors	⋮	
⋮	17 Allele	
19 Anopheles Gambiae Allele	⋮	
⋮	15 Risk assessment	
18 Anopheles	⋮	
	11 Mosquito Control	
	Insect Vectors	
	⋮	
	10 Anopheles Gambiae	

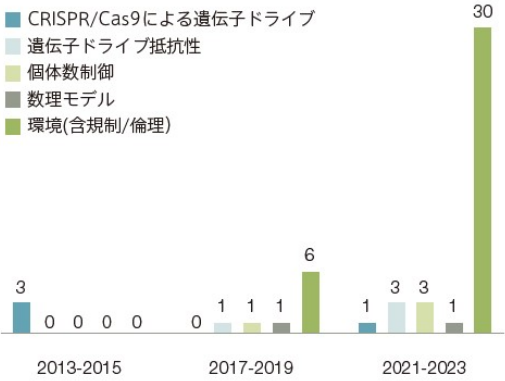


Fig. 4 “蚊”と“遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文

致死遺伝子が組み込まれた OX513A

英・オキシテック社は致死遺伝子を組み込んだOX513Aのオスを用い, 野外試験を行っている。

致死性遺伝子としてコードされたのはtTAV*。遺伝子改変蚊の体内でtTAVが高レベルで発現すると細胞の発達が妨げられ死に至る。

しかし「テトラサイクリン抑制性」なのでテトラサイクリン系抗生物質が与えられればtTAVの発現が抑制されて生き延びる。そうすると, 野に放たれた「テトラサイクリン系抗生物質を与えて飼育したOX513Aのオス」と野生メスとの間で生まれた次世代は, テトラサイクリン系抗生物質を与えられなければ, 父親が受け継いだ致死性遺伝子のために生殖機能をもつ前に死んでしまう。結果, 個体数が縮小していく [14]。

OX513Aを用いた野外試験は2009年にケイマン諸島で実施されたのを発端に, 2010年代に実験が重ねられた。中でも2011年に実施されたブラジルでの大規模実験では 85% 減少が報告された[15]。

2021年にはOX513Aを改良したOX5034の大規模野外実験が米フロリダ州キーズ諸島で始まった。

* Tetracycline-repressible transcriptional transactivation; テトラサイクリン抑制性転写活性化因子

性比のバランスを壊す

蚊の個体数減少に対して遺伝子ドライブ以外の方法も検討されている。性染色体をゲノム編集の標的とし“性比異常 (sex-ratio distortion)”を誘導するというものだ。

2014年にクリサンティ, パートらはこの手法で集団内のザンビエハマダラカの個体数減少に成功した。ザンビエハマダラカのゲノムにエンドヌクレアーゼ*を組み込み精巢で発現させることで, X 染色体の特定領域 (リボソーム DNA 遺伝子配列) を選択的に切断した。ケージ内のザンビエハマダラカにこの措置を施したところ, 次の世代の性比バランスが大きく歪み (オスが95% 超), 個体群が縮小していった[16]。

* Endonuclease. 核酸の内部から切断する核酸分解酵素 (核酸を加水分解する酵素)。DNA とRNA の両方を分解するのはヌクレアーゼ, 末端から分解していくのはエキソヌクレアーゼ。

ビル&メリンダ・ゲイツ財団

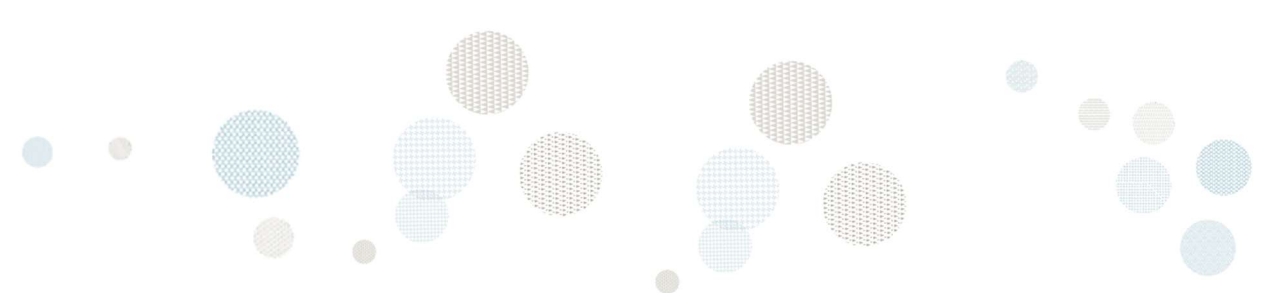
BILL & MELINDA GATES foundation

世界蚊プログラム「ワールド・モスキート・プログラム」も「ターゲット・マラリア」のいずれもビル&メリンダ・ゲイツ財団から多大な研究資金が支援されている。同財団の研究プログラム「グランド・チャレンジズ・イン・グローバルヘルス」の第1期募集では, 致死性の高い病気を対象とする44プロジェクトに対して総額4.5億ドルを超える研究費を助成した。

マイクロソフト社の創業者ビル・ゲイツは1997年, メリンダ・ゲイツと共同でゲイツ図書館財団を設立した。時あたかもインターネット黎明期。全米の公共図書館でインターネットアクセスの無料提供を目指すことが設立趣旨であった。後にゲイツ学習財団と名称変更, さらに2000年, 実父が設立していたウィリアム・ゲイツ財団と合併し, ビル&メリンダ・ゲイツ財団となった。

No.6 重点感染症シリーズ

感染症媒介蚊と遺伝子ドライブ



Malaria No More の
10-to-End イノベーター

**malaria
NO MORE**

「マラリア・ノーモア」は、2016年、米大統領のマラリア・イニシアチブの一環で設立された非営利団体である。2019年、同団体は、米政府と「10-to-ENDイノベーター」を選出・表彰した。マラリア撲滅の取り組みに貢献した10人を「長期持続殺虫網（LLIN）」「データ革命（診断・ゲノムクス）」「根治治療」「モスキートコード解読」の4カテゴリーごとに選出。オキシテック社CEOのグレイ・フランゼン、住友化学・西本麗らが名を連ねた[17] (Table 3)。

長期持続殺虫網（Long-Lasting Insecticidal Net, LLIN）

住友化学は、防虫剤処理蚊帳「オリセト® ネット」（写真）を世界へ供給している。この蚊帳は、ポリエチレンネットに練り込まれた防虫剤ピレスロイドが徐々に表面に染み出てくることで長期にわたり効力を発揮する[18]。元々は工場の虫除け網戸に活用していた技術である。

2001年にはWHOから長期残効型蚊帳として公式に推奨された[19]。現在は国連児童基金（UNICEF）などの国際機関を通じて約100の国々に供給されている[20]。



オリセト® ネット
(住友化学(株)提供)

Table 3 10-to-End イノベーター

長期持続殺虫網(LLIN)の構築		
西本 麗	住友化学	殺虫剤耐性を超える新たな化学
ミッケ・ベスターガー	ベスターガード・フランドセン	殺虫剤耐性に警鐘、LLINの普及
データ革命・診断からゲノミクスまで		
ジェニファー・ガーディ	ビル&メリンダ・ゲイツ財団	マラリアに公衆衛生ゲノミクスのツールを導入
サイモン・ヘイ	保健指標評価研究所	「ビッグデータ」と地理空間科学を活用してマラリアを撲滅する取り組み
テレヴァー・マーティン	マンモス バイオサイエンス	CRISPR を診断に応用
キャロライン・バックキー	ハーバード大	携帯電話の通信データを活用した感染拡大モデル
クリス・スコギンズ	アボット	最前線の医療従事者の手に最先端の診断機能を提供
三日熱マラリア原虫に対する根本治療法		
ジュリア・ザック	ノバルティス	アルテミシニン治療の先駆研究
モスキートコードの解読		
グレイ・フランゼン	オキシテック	Friendly™ ネットイシマカの開発と野外実験
スレーシュ・スプラマニ	UCSD/タタ遺伝学・社会研究所	蚊感染症におけるCRISPR 主導「アクティブ遺伝学」の適用

●●●● References

[1] Kevin M Esvelt, eLife, Jul 17, 2014

[2] <https://www.sankei.com/article/20190203-CTNZMLMYIBKLDMA7WAFIQCNNLLQ>

[3] Kyrou, K. et al Nat. Biotechnol., 36, 106, 2018

[4] Gantz, V.M. and Bier, E., Science 348 442, 2015

[5] <https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/011900001/16/07/06/00044>

[6] 山本大介, 日本蚕糸学会, 86, 2, 105, 2017

[7] Gantz, V.M. et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 112, E6736, 2015

[8] Servik, K, Science, 365, 1234, 2019

[9] <https://globe.asahi.com/article/11651583>

[10] <https://www.darpa.mil/program/safe-genes>

[11] Hammond A.M., et al., PLoS Genet., 13, 10, e1007039, 2017

[12] Champer, Jackson, et al., PLoS Genet., 13, 7, e1006796, 2017

[13] Unckless R.L, et al., Genetics, 205, 2, 827, 2017

[14] <https://wired.jp/2016/03/14/gm-mosquitoes-clear-an-fda-hurdle-for-florida-release>

[15] Emily Waltz, Nat. Biotechnol. , 34, 221, 2016

[16] Galizi, R. et al, Nat Commun, 5, 3977, 2014

[17] <https://www.malarianomore.org/news/malaria-no-more-honors-innovators-and-ideas-helping-to-make-the-end-of-malaria-possible-in-our-lifetimes/>

[18] 伊藤高明ら, 住友化学, 11, 4, 2006

[19] https://www.unic.or.jp/news_press/features_backgrounders/4296/

[20] https://www.sumitomo-chem.co.jp/sustainability/social_contributions/olysetnet/initiative/