

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： デング熱国内流行阻止のためのデングウイルス及びデング熱媒介蚊ゲノムデータベースの強化と利用

2. 研究開発代表者： 沢辺 京子（国立感染症研究所 昆虫医科学部）

3. 研究開発の成果

2014年、約70年ぶりにデング熱国内感染例が発生した。デング熱の輸入症例は年々増加し、媒介蚊のヒトスジシマカは広く本州に分布している。今後も同様の事態が発生することが予測されるため、海外流行地の情報を迅速に入手し利用することが必要不可欠となった。本研究では、国内外に散在するデングウイルス及びデング熱媒介蚊のゲノム情報をはじめとする種々情報を積極的に収集・蓄積し、既知のデータベースを強化・推進し、有効に利用することでデング熱の国内流行阻止ならびに流行予測に資することを目的とした。デング熱が国内で発生した場合の対応・対策が可能になるとともに、デング熱流行予測および新規殺虫剤の開発に貢献する。具体的には、①媒介蚊のウイルス感受性を含む生物学的情報・環境情報、②ウイルスゲノム情報・患者情報等を入手し、それら情報を基盤とした③ゲノムデータベースの構築、利用しやすいインタラクティブで平易なツールを開発し、情報公開を目指す。

### ① 媒介蚊のゲノム情報収集

- 1) 蚊のデングウイルス感受性を正しく評価するために、蚊にデングウイルスを経口的に感染させ、TaqManプローブ法およびSYBR Green法によりウイルスRNAを定量し、免疫蛍光抗体法（IFA）によりウイルス抗原の局在を観察する評価系を確立した。
- 2) デング熱の森林サイクルと都市型サイクルの存在を検証するために、H28年度にベトナムでの調査を計画し、国立衛生疫学研究所（NIHE）昆虫部門の担当者と研究打ち合わせを行った。
- 3) ベトナム中部産ネッタイシマカ成虫のピレスロイド系殺虫剤（ペルメトリン）に対する薬剤感受性を調べた結果、その集団は非常に強い抵抗性を発達させていることが判明した。ピレスロイド剤の作用点ナトリウムチャネルの遺伝子解析から、この集団には既存の抵抗性遺伝子（F1534C）の変異とは異なる新規のアミノ酸変異を有する個体が存在することが明らかとなり、これがベトナムのネッタイシマカ集団のピレスロイド抵抗性レベルを大きく増大させていると推察された。

### ② デングウイルスのゲノム情報収集

- 1) デングウイルスの活動域とその拡散状況をグーグルマップにより可視化するツール（別の研究班で開発）を利用してデングウイルス2型（血清型）大きな流行を起こす“拡大型”と流行が比較的限局している“土着型”を分類したところ、アジア・アメリカ遺伝子型がコスモポリタン遺伝子型同様に“拡大型”と考えられることが判明した。
- 2) デングウイルス全ゲノムシーケンスのためのゲノム調製法および次世代シーケンシング解析法を確立した。本解析法により、これまでにウイルスゲノム陽性であったRNAサンプル（102）のうち86サンプルで8,000ヌクレオチド以上、5サンプルで4,000~8,000ヌクレオチドがそれぞれ決定された。
- 3) 2014年のデング熱国内流行時に代々木公園とその周辺で捕集されたヒトスジシマカから分離されたデングウイルスの約10,430ヌクレオチドをメタゲノム解析により決定した。これら蚊由来デングウイルスのうち、国内の患者由来ウイルスの配列と一致しないアミノ酸置換を伴う多型を確認した。

### ③ ゲノムデータベースの構築と情報公開の基盤整備

本研究班にて収集する国内外のデングウイルスおよびデング熱媒介蚊の配列情報を整備し、既に公開されている配列情報との統合を進めた。国内外で検出されるデングウイルスおよび媒介蚊の配列情報を積極的に収集・取得し、デングウイルスおよび媒介蚊の遺伝型を基盤としたデータベースを構築した。本期間ではデング熱感染症を俯瞰的かつインタラクティブに閲覧可能な伝播マップ等を整備し、伝播状況をリアルタイムで閲覧可能になる情報ツールを公開した（DGV: <https://gph.niid.go.jp/geograph/dengue/content/genomemap>）。