

4) マラリア伝搬阻止患者血清を用いたワクチン候補抗原の探索

上記で発現した 80 種の組換えタンパク質を、タイ国の熱帯熱マラリア患者血清のうち、伝搬阻止活性が確認されたものを用いて ELISA でスクリーニングした。その結果、数種の組換えタンパク質がこの血清中の抗体と反応したため、これらの生殖母体タンパク質を伝搬阻止ワクチン候補分子とした。

5) 今後の課題

上記で検出された伝搬阻止ワクチン候補分子をコムギ無細胞タンパク質合成法を用いて大量に発現し、精製の後マウスで特異抗体を作成する。この血清中の抗生殖母体タンパク質抗体の存在を、間接蛍光抗体法、ウエスタンブロット法を用いて検討し、原虫を認識する抗体の誘導が確認された血清に関しては、タイ国の熱帯熱マラリア原虫患者分離株と混合し、血清の伝搬阻止活性を確認する。

また、本研究手法の有効性が確認されれば、ゲノムワイドな網羅的抗原探索への応用も可能と考えられ、そのような研究から、将来の流行予知等に有用な血清疫学研究に用いることの出来る新規抗原タンパク質の同定も可能となる。

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) T. Rungruang, O. Kaneko, Y. Murakami, T. Tsuboi, H. Hamamoto, N. Akimitsu, K. Sekimizu, T. Kinoshita, M. Torii
Erythrocyte surface glycosylphosphatidyl

inositol anchored receptor for the malaria parasite.

Mol. Biochem. Parasitol. 140, 13-21, 2005.

- 2) O. Kaneko, B.Y.S. Yim-Lim, H. Iriko, I.T. Ling, H. Otsuki, M. Grainger, T. Tsuboi, J.H. Adams, D. Mattei, A.A. Holder, M. Torii

Apical expression of three RhopH1/Clag proteins as components of the *Plasmodium falciparum* RhopH complex.

Mol. Biochem. Parasitol. 143, 20-28, 2005.

- 3) T. Arakawa, A. Komesu, H. Otsuki, J. Sattabongkot, R. Udomsangpetch, Y. Matsumoto, N. Tsuji, Y. Wu, M. Torii, T. Tsuboi

Nasal immunization with a malaria transmission-blocking vaccine candidate, Pfs25, induces complete protective immunity in mice against field isolates of *Plasmodium falciparum*.

Infect. Immun. 73, 7375-7380, 2005.

2. 学会発表

- 1) Tsuboi T, Takeo S, Iriko H, Jin L, Han E-T, Kaneko O, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Sawasaki T, Torii M, Endo Y.

Wheat germ cell-free system: A powerful tool to identify novel vaccine candidates based on the *Plasmodium falciparum* genome database.

- ASTMH 54th annual meeting, Washington, DC, USA, December 11-15, 2005.
- 2) Takeo S, Iriko H, Jin L, Tsuchimochi M, Han E-T, Kaneko O, Torii M, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Sawasaki T, Endo Y, Tsuboi T.
High-throughput screening for asexual blood stage *Plasmodium falciparum* vaccine candidates.
ASTMH 54th annual meeting, Washington, DC, USA, December 11-15, 2005.
- 3) Iriko H, Takeo S, Jin L, Kaneko O, Torii M, Sattabongkot J, Singh S, Sawasaki T, Endo Y, Tsuboi T.
Screening of novel malaria transmission-blocking vaccine candidates using wheat germ cell-free protein synthesis system.
ASTMH 54th annual meeting, Washington, DC, USA, December 11-15, 2005.
- 4) Iriko H, Kaneko O, Otsuki H, Tsuboi T, Torii M.
Gene conversion and extensive polymorphism of the RhopH1/clag family members in *Plasmodium falciparum*.
ASTMH 54th annual meeting, Washington, DC, USA, December 11-15, 2005.
- 5) Han E-T, Seok W-S, Kim Y-S, Tsuboi T, Chai J-Y.
Changing patterns of the reemerging *Plasmodium vivax* malaria in the Republic of Korea.
ASTMH 54th annual meeting, Washington, DC, USA, December 11-15, 2005.
- 6) 木村理沙、矢野和彦、駒木-安田加奈子、坪井敬文、鳥居本美、狩野繁之、河津信一郎
2-Cys 型ペルオキシレドキシシ(PTPx-1) 欠損熱帯熱マラリア原虫のトランスクリプトーム解析
第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、4/8-9、2005。
- 7) 矢野和彦、駒木-安田加奈子、大槻均、坪井敬文、鳥居本美、狩野繁之、河津信一郎
2-Cys 型ペルオキシレドキシシ(TPx-1)ノックアウトがマラリア原虫の媒介蚊体内発育に及ぼす影響の解析
第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、4/8-9、2005。
- 8) 前田卓哉、齋藤智也、竹尾暁、鈴木寛子、坪井敬文、河津信一郎、竹内勤、浅井隆志
熱帯熱マラリア原虫におけるアピコプラスト型ピルビン酸キナーゼの解析
第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、4/8-9、2005。
- 9) 大槻均、金子修、入子英幸、竹尾暁、坪井敬文、鳥居本美
ネズミマラリア原虫の赤血球結合分子相同体 EBL の局在と病原性

第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、
4/8-9、2005。

- 10) 梁 惠賢、有末伸子、三田村俊秀、
Udomsangpetch R、坪井敬文、鳥居本美、
堀井俊宏

Studies of expressions and polymorphism
of the SERA-homologous genes in
Plasmodium vivax.

第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、
4/8-9、2005。

- 11) 入子英幸、竹尾暁、金玲、金子修、鳥居
本美、坪井敬文

新規熱帯熱マラリア伝搬阻止ワクチン候
補抗原のゲノムワイドな探索

第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、
4/8-9、2005。

- 12) 竹尾暁、入子英幸、金玲、金子修、鳥居
本美、坪井敬文

熱帯熱マラリア原虫プロテインアレイを
利用した新規ワクチン候補抗原分子の
探索

第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、
4/8-9、2005。

- 13) 佐藤暖、岡田麻美、繁田泰男、竹尾暁、
坪井敬文、野崎智義

赤痢アメーバの食食に関連したシステイ
ンプロテアーゼ及びシステインプロテア
ーゼ様タンパク質の解析

第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、
4/8-9、2005。

F. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきものはない

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究
東南アジアにおけるG6PD欠損症の疫学

分担研究者 川本 文彦 大分大学・総合科学研究支援センター・国際保健部門

概要： 現在、アフリカにおけるG6PD欠損症の分布はマラリアの流行地域の地理的相関から、マラリアの自然淘汰により有利な形質として選択された結果とされている。しかし、我々が行った東南アジアでの疫学調査では、G6PD異常症とマラリア感染の間には相関が見られなかった。G6PD異常症患者は、抗マラリア薬であるプリマキンなどの酸化剤の投与、感染症罹患、ソラマメなど特定の食品摂取などの誘因により暴露された際に、急激な溶血性貧血発作を来すことがあるが、臨床的には往々無症状で経過することも少なくなかった。今後、相対的に三日熱マラリアが増加し、プリマキンの使用が拡大するに伴って、G6PD異常症が顕在化する可能性は高い。そこで、熱帯のフィールドでも利用しやすい簡便なG6PD異常症の検出法を開発すると共に、各々の国で基本となる人類遺伝学的なデータを収集してきた。G6PD異常症の診断には今日までに多くの方法が発表されてきたが、いずれの方法もフィールドでの応用には問題を抱えている。そこで、WST-8と1-methoxy PMSの組み合わせにより、G6PD活性（NADPH）の定量的測定が可能であることを利用し、簡易測定法を開発し、2003年に特許を取得した。実際にこの方法を用いて、東南アジアにおいて調査を行ったところ、いずれの国でも、5～10%程度の異常症が検出された。各々の国で有意となる型は、地域性や民族構成・歴史を反映したものとなり、特にマレーシアやインドネシアでは、多くの型が見いだされた。

A. 研究目的

G6PD異常症の診法として、当該研究者が開発したWST-8と1-methoxy PMSの組み合わせによるG6PD活性（NADPH）の定量的測定を用い、東南アジアにおいてG6PD欠損症の分布調査を行った。

B. 研究成果および考察

G6PD欠損（異常）症は、世界で最も良く知られ、かつ頻度の高い酵素異常症

であり、熱帯諸国を中心に世界ではおよそ4億人が変異遺伝子の保有者と推測されている。本症はマラリアと深い関係にあり、本症の分布とマラリアの流行地域の地理的相関から、マラリアの自然淘汰により有利な形質として選択された結果と想像されている。しかし、これまでの我々の東南アジアにおける疫学調査では、G6PD異常症とマラリア感染の間には相関が見られていない。

G6PD 酵素遺伝子は、X 染色体長腕 (Xq28) に位置しており、この酵素遺伝子に変異が起きると様々な G6PD 活性の異常が見られ、新生児黄疸や急性溶血性貧血などを引き起こす。G6PD 異常症は性劣性遺伝形式をとる疾患で、患者の大部分はヘミ接合体の男性(XY)とホモ接合体女性(XX)で、ヘテロ接合体の女性(XX; 50%前後の活性)よりは臨床的症状が重くなる。臨床像から、1) 無症候型、2) 急性溶血型、3) 慢性溶血型の3つに分類されるが、医学的に検出が重要となるのは2)と3)に属する G6PD 異常者で、抗マラリア薬であるプリマキンなどの酸化剤の投与、感染症罹患、ソラマメなど特定の食品摂取などの誘因により暴露された際に、急激な溶血性貧血発作を来すことが特徴である。しかし、多くの G6PD 異常症患者は臨床的には無症状で、溶血を伴った病歴が全く現れずに過ごしている人も多い。また、熱帯諸国、特にマラリア流行地においては、G6PD 異常症の検査を受診した経験が無いため、G6PD 異常症であることさえ知らないのが普通である。これは、従来の G6PD 異常症の診断法に問題があり、マラリア流行地などの電気の無い辺鄙な地域で利用できる診断法が欠如していることに起因していた。

プリマキンは、三日熱マラリア感染の根絶療法薬として広く使用されており、また、熱帯熱マラリアの生殖母体による伝播を防止するための薬としても使用されている。しかしながら、プリマキンにより引き起こされる G6PD 異常症患者の溶血性貧血は医学的に重大な問題であり、また、マラリア対策における化学療法活

動においても制限を与える結果となっている。従って、マラリア対策プログラムを開始する前に、地域住民の G6PD 異常症を前もって把握することが大変重要となってくる。アフリカでは、ファンシダールに対する熱帯熱マラリアの抵抗性が問題となり、数年前よりダスポンが導入され始めたが、この薬はプリマキンよりもさらに強力な溶血性貧血誘導剤であり、投与前に G6PD 活性の測定が望ましいとされている。

G6PD 異常症の診断には今日までに多くの方法が発表され、生成 NADPH を蛍光分光光度計で測定する方法、蛍光スポット法、ホルマザン基質の MTT と発色試薬の PMS を使ったホルマザン発色法(藤井らによるリング法、廣野らの迅速法)などが知られている。しかし、いずれの方法でも村落の現場で実際に応用するには種々の問題を抱えていた。特に、蛍光スポット法は最も良く知られた方法で、簡便かつ迅速な方法であるが、紫外線ランプと電気、暗室を必要とする。多くのマラリア流行地では電気が供給されておらず、たとえ供給されていても夕方以降のみであることが多い。また、本遺伝子疾患は父親のみならず母親からも子供に伝わるため、ヘテロ接合体の女性異常者の検出も重要となるが、この方法ではヘテロ接合体の女性の G6PD 異常症の検出は極めて難しい。

一方、MTT ホルマザン発色法では、MTT がヘモグロビンと反応するため、血液と MTT を直接反応させないようにするため種々の工夫が行われてきたが、そのために診断キットの作製に多大な時間や研究室的な作業が必要となっていた。

これらの方法の中では、DEAE-Sephadex を担体とした方法（廣野法）は全く機器を使用せず視認で判定する方法で、大変優れた方法であるが、ゲルの作製に多量の緩衝液と多大な時間を必要とし、蛍光スポット法と同じく、ヘテロ接合体の女性異常者の検出は難しい。更に、hydrogen-carrier の PMS が非常に強い光感受性で、通常の室内ライトに対しても反応するため、常に暗く保つなどの特別な注意を払わなければならない。また、生成ホルマザンは水不溶性であるため G6PD 活性の定量的測定は難しく、反応の停止が出来ないという欠点もあった。

G6PD 異常症とマラリア抵抗性に関して興味を持たれたため、廣野法を用いて疫学調査を始めたが、AO 法によるマラリア迅速診断法と組み合わせれば、マラリアと G6PD 診断が村落の現場で行え、三日熱マラリア患者や熱帯熱の生殖母体保有者に安心してプリマキンが投与できるはずである。実際、廣野法によりヘミ接合体男性の欠損者は容易に検出できたが、ヘテロ接合体女性の検出は難しかった。

廣野法の欠点を改善した新しい診断法の開発を心がけたが、3 年間の間、具体的に良い案は思いつかなかった。その後、G6PD 欠損赤血球における熱帯熱マラリア原虫の増殖抑制に関する研究の過程で、システインと BCS という銅キレート剤を添加すると正常赤血球並みに増殖することを見出し、NADPH 量を測る必要性が出てきた。その測定法を検討している折に、同仁化学から NADH 測定用に発売されていた新しいホルマザン基質の WST-8 を知り、NADPH（即ち G6PD 活性）の測定への応用が考えられた。その結果、

WST-8 と 1-methoxy PMS の組み合わせにより、G6PD 活性（NADPH）の定量的測定が可能であることが判った。1-methoxy PMS は光に強く、1 N-HCl の添加で反応停止も可能であった。WST-8 ホルマザンは強い橙色を呈するため、廣野法と同じく 15 分で発色を視認により確認することにより迅速診断が可能であり、特許出願(特願 2003-071219)を行った。

自治医大の松岡教授と、新しい G6PD 迅速診断法をミャンマー、インドネシア、タイなどで廣野法と比較しながら調査したところ、重度欠損は両者共に同じ結果を示したが、ヘテロ接合体女性は廣野法ではやはり正常と誤診された。新 G6PD 迅速診断法の診断結果の正確性は、松岡教授の異常症サンプルの遺伝子解析により確認されている。これまでの東南アジアにおける調査では、いずれの国でも、5～10%程度の異常症が検出されている。特に多かったのは、ミャンマーのラカイン（アラカン）族で 20%以上であった。また、変異型の遺伝子解析では、大変興味深い結果が得られており、ラオスでは全てビエンチャン型変異のみが観察され、ラオ族と民族的に極めて近いタイでも 2/3 はビエンチャン型で、残りにマヒドン型や中国人由来のカントン・カイピン型が含まれていた。一方、隣接するミャンマーでは 90%以上がマヒドン型で、明らかにタイ族・ラオ族とは異なっていた（図 1）。また、ラカイン族はアラカン語を話し、他部族と婚姻しないためかなり孤立した民族のように思えたが、変異型は全てビルマ族と同じくマヒドン型のみであり、元々はビルマ族の一族であることが示された。

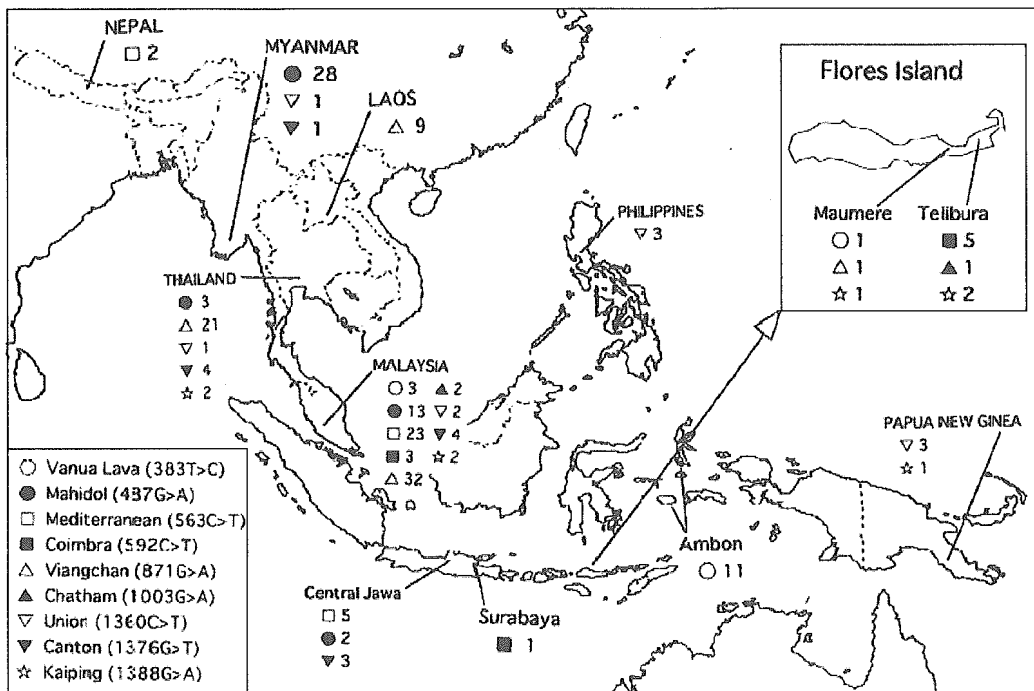


図1 東南アジア各地から得られた G6PD 異常症の遺伝子型 (松岡原図)

マレーシアは歴史的にも多民族が入り組んでできた国家であるため、様々な型の存在がすでに報告されており、シンガポールと共に、全ての新生児に対して G6PD スクリーニングを行っている国でもある。インドネシアも多民族からなる国家であり様々な変異型が見出せるが、コインブラ (先住民族)、チャタム (インド?由来)、カイピン (中国)、マヒドン (東南アジア)、ビエンチャン (カンボジア)、バヌアラババ (太平洋諸島) などが見いだされており、マレーシアと同じく極めて多彩な先祖を持っていることが明らかである。特に、フローレス島のマウメレと近くのタリブラ村では、狭い地域にも関わらず 5 つの型が分布していた (図 1)。

カンボジアやベトナムにおいても調査を行っているが、カンボジアは、隣のタイ族との交流が強くビエンチャン型が出ると予想していたが、予測どおり 36 名中 35 名がビエンチャン型であった。また、ベトナムのベト・キン族は歴史的に中国の影響を強く受けているため、中国から見つかっている型が混在していると予測していたが、中国由来のカイピン・カントン・ユニオン・クイユアン・ガウヘ (13 例) と東南アジア型のビエンチャン (9 例) が見つかっている。一方、少数民族のカホ族はすべてビエンチャン型で、ベト・キン族と異なりクメール族に近いことが判明した。ベトナム南部のカホ族が、元々、南中国から北ベトナムにかけて住んでいたベト・キン族とは異なっていて

当然である。G6PD 遺伝子変異が民族の歴史とよく一致し、大変興味深い結果である。今後は、中国からベトナム、ラオス、カンボジア、ミャンマー、インドネ

シアに住んでいる少数民族をターゲットにした疫学調査を行うことを計画している。

文献

Tantular, I. S. et al.: Field trials of a rapid test for G6PD deficiency in combination with a rapid diagnosis of malaria. *Trop. Med. Int. Health*, 4(4), 245-250, 1999.

Iwai, K. et al.: Distribution of Glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in Southeast Asia. *Hum. Genetics*, 108(6), 445-449, 2001.

Tantular, I. S. et al.: Synergistic enhancement of a copper chelator, bathocuproine disulphonate, and cysteine on *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum* in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes. *SEA. J. Trop. Med. Pub. Health*, 34(2), 301-309, 2003.

Tantular, I. S., Kawamoto, F.: An improved, simple screening method for detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Trop. Med. Int. Health*, 8(6), 569-574, 2003.

Matsuoka, H. et al.: Five different glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)

variants found

among 11 G6PD-deficient persons. *J. Human Genet.*, 48(10), 541-544, 2003.

Jalloh, A. et al.: Rapid epidemiologic assessment of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in malaria-endemic areas in Southeast Asia using a novel diagnostic kit.

Trop. Med. Int. Health, 9(5), 615-623, 2004.

Matsuoka, H. et al.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Myanmar: G6PD

Mahidol (487G>A) is the most common variant in the Myanmar population.

J. Human Genet., 49(9), 544-547, 2004.

Matsuoka, H. et al.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Cambodia: G6PD

Viangchan (871G>A) is the most common variant in the Cambodian population.

J. Human Genet., 50(9), 468-472, 2005

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究
我国におけるマラリア媒介蚊の現状

分担研究者 津田良夫 （国立感染症研究所 室長）

我国には合計 12 種類のハマダラカが生息している。これらの中で生息密度や人吸血嗜好性、人マラリアの媒介能力などを考慮すると、コガタハマダラカ、オオハマハマダラカ、シナハマダラカ、オオツルハマダラカ、チョウセンハマダラカの 5 種が重要なマラリア媒介蚊であるということが出来る。特にコガタハマダラカは 1960 年代まで八重山諸島で流行していた熱帯熱マラリアの主要媒介蚊であり、現在も石垣島のほぼ全域に分布しており、発生源に近い集落では成虫の飛来が確認されている。コガタハマダラカの吸血飛来数には場所によって非常に大きな違いが見られ、採集場所周辺の地形や植生などが飛来数の多少と関係しているものと思われる。コガタハマダラカ成虫の吸血飛来個体数を決定している生態的要因に関して今後詳細な研究が必要である。オオハマハマダラカ、シナハマダラカ、オオツルハマダラカ、チョウセンハマダラカに関しては、現在の生息状況はよくわかっておらず、全国的な発生状況調査が望まれる。

石垣島および西表島で実施した現地調査によって、コガタハマダラカ、オオハマハマダラカ、シナハマダラカ、オオツルハマダラカの生息が確認された。

A. 研究目的

人マラリアはハマダラカ属 (*Anopheles*) の蚊によって媒介される蚊媒介性疾患である。人為的な方法を除けば人マラリアは蚊がいなければ伝播されることはない。したがって、人マラリアの我国への侵入監視を目的とする研究で第一に重要な課題は、人マラリアを媒介できるハマダラカがどこにどの程度生息しているかをできるかぎり正確に把握することである。

本研究では、我国に生息するハマダラカのリストを作成し、我国における人マラリアの流行に関与すると思われる種類を指摘した。また、1960 年代まで熱帯熱マラリア患者が多数報告された石垣島を取り上げ、媒介蚊の島内分布の変化や現在の生息密度について、文献および過去 10 数年間に実施した現地調査を参考にま

とめた。

B. 研究方法

文献を参考にして我国に生息するハマダラカのリストを作成した。マラリア媒介蚊の媒介能力を左右する生態的性質を整理し、その結果に基づいて我国に人マラリアが侵入した際に流行に関与すると思われる種類を指摘した。

過去に実施された石垣島のマラリア調査資料を参考にして、島内の患者と媒介蚊の分布を整理した。最近の石垣島におけるマラリア媒介蚊の分布状況を文献および現地調査結果に基づいてまとめた。特にマラリア媒介蚊の発生密度が高い野底地域を対象とした吸血飛来成虫の密度と地形の対応について考察を行った。

これまで石垣島で実施してきた調査は主としてコガタハマダラカに限られてい

た。石垣島・西表島に生息する他のマラリア媒介蚊について、その生息状況を調査するための予備調査を実施した。今回の予備調査では幼虫調査による発生源の確認を主目的とした。

C. 研究結果

我国で生息が確認されているハマダラカ 12 種類を表 1 にまとめて示した。人マラリア媒介能は熱帯熱マラリア (Pf) と三日熱マラリア (Pv) を区別して示した。人マラリアを媒介する能力があるとされる種類はコガタハマダラカ、オオハマハマダラカ、シナハマダラカ、オオツルハマダラカ、チョウセンハマダラカの 5 種類である。これら 5 種以外の 7 種類はいずれも生息密度は低く希少種であり、人マラリアの媒介能力もない。したがって我国での人マラリアの流行を問題にする際に、考察の対象となる媒介蚊は表 1 の 1 から 5 番目までに示した種類である。

マラリア患者から蚊の吸血によって新たな二次患者が発生する過程と蚊の媒介能力を左右する生態的形質を図 1 に示した。蚊の集団はすべての個体と同じ種類の動物から吸血するわけではなく、何種類かの動物から吸血しているのが普通である。蚊がどのような種類の動物を吸血源としているかという性質は吸血嗜好性と呼ばれ、蚊の媒介能力を左右する形質の一つである。吸血によって患者からマラリア原虫を取り込んだ蚊の体内では、マラリア原虫の増殖が起こりその結果スポロゾイトが唾液腺に達して感染可能な状態になる。この感染蚊になるまでには 10 日前後の時間が必要であり、この期間をいかに生き残るかという生存率が蚊の媒介能力を左右する二つ目の生態的形質である。生存率は感染蚊が死亡するまでに何人の人にマラリアを感染させるかという数にも関係している。もうひとつ重

要な生態的形質は生息密度である。生息密度が低すぎればマラリアの流行は起こり得ないことが理論的に示されている。

以上の生態的形質を考慮すると、現時点でもっとも注意を要するのは八重山諸島に分布するコガタハマダラカであると言えることができる。そこで石垣島における過去の熱帯熱マラリア患者の分布やコガタハマダラカの分布について調べてみた。

1901 年および 1955 年当時の石垣島におけるマラリア患者の分布を宮崎 (1906) と千葉 (1972) に基づいて図 2 に示した。約 50 年の隔たりがあるが患者の島内分布はよく似ており、患者が多く分布していたのは島の中部以北で、これに対して無病地帯とされていたのは島南部の沿岸地帯に限られている。

石垣島のマラリアの主要媒介蚊とされているコガタハマダラカの島内分布を千葉 (1972) および当間ら (2002) に基づいて図 3 に示した。1946 年および 1969 年の調査結果によれば、コガタハマダラカの分布は島の中部以北で確認されており、図 2 に示した患者の多発地域と重なっている。当間らが 1998 年および 1999 年に実施した幼虫発生源調査によれば、コガタハマダラカ幼虫は調査した 48 のうち 33 水系 (1998 年)、56 のうち 38 水系 (1999 年) と島のほぼ全域で発生が認められた。また、幼虫の生息密度の高い地域として星野、野底などが指摘されている。

現在もコガタハマダラカ幼虫の生息密度が高い石垣島野底地域で、本種成虫がどの範囲まで吸血のために飛来するかを過去に実施した現地調査結果からまとめてみた (図 4)。1993 年 7 月に実施した調査では、野底地域の主要発生源である西浜川を中心として 11 ヶ所を選んで人囲採

集を行い、平均で半夜当たり 1.81 雌の成虫が採集された。兼城の集落にある公民館付近でも半夜当たり 4 雌が採集された。採集個体数は場所によって大きく異なりもっとも多く捕獲されたのはサトウキビ畑であった。

コガタハマダラカ幼虫の発生が確認された複数の河川を含むより大きな範囲における成虫の吸血飛来密度を図 5 に示した。この野底—浦底地域には少なくとも 4 つの発生源が存在している。図 5 にはコガタハマダラカ成虫の飛翔範囲が約 1km であると仮定し、それぞれの発生源を中心として半径 1km の円を描いた。この地域内の 18 ヶ所を選び人囀採集を行った結果を円の大きさによって図中に示した。飛来成虫の密度は場所によって大きく異なり、発生源からの距離によってはうまく説明できないことは明らかである。

2005 年 10 月に西表島・石垣島の水田、湿地、溪流で幼虫調査を実施し以下の結果を得た。西表島の大富、古見、美原、野原、大見謝で幼虫を採集した。古見の溪流でコガタハマダラカとオオハマハマダラカの生息が確認された。美原、野原、大見謝の湿地と水田でシナハマダラカの生息が確認された。石垣島では野底地域と名蔵、崎枝で幼虫調査を行い、野底地域でコガタハマダラカ、シナハマダラカ、崎枝でオオツルハマダラカの生息を確認した。

D. 考察

石垣島ではかつて 1960 年代まで熱帯熱マラリア患者が多数報告されていたこと、当時の主要な媒介蚊であったコガタハマダラカが現在も島内の 68% の河川に生息していること、さらに現在でも発生源に近い集落でコガタハマダラカの吸血飛来が確認されること、これらの理由から我国に生息しているハマダラカで熱帯

熱マラリアを媒介可能な種類として最も警戒を要する種類は、コガタハマダラカであるといえるだろう。石垣島野底地域における成虫調査結果に示されているように、本種が吸血のために飛来する場所には地形や植生、発生源や吸血源との位置関係に何らかの特徴があると思われる。コガタハマダラカの吸血飛来個体数を決定している要因に関してさらに詳細な研究が必要である。

オオハマハマダラカは西表島と沖縄本島に分布しているが、沖縄本島における詳細な分布調査は行われておらず現在の生息状況はよくわかっていない。今後の詳細な発生源調査が必要である。

九州以北地域で問題となるマラリア媒介蚊はシナハマダラカとオオツルハマダラカの 2 種である。1990 年代後半から北朝鮮と韓国の国境地帯で三日熱マラリアの大規模な流行が起こった。シナハマダラカはこの流行における主要な媒介蚊のひとつであったといわれている。我国でも昭和 30 年代までは滋賀県や福井県で三日熱マラリア患者が発生していた。このような例を考慮すると、状況によっては三日熱マラリアが我国で流行する可能性はないとは言い切れない。他方でシナハマダラカの個体数は年々減少し続けているという報告もあることから、全国的な発生状況調査を実施し現状を正確に把握することが今後の重要な課題のひとつであると思われる。

E. 結論

我国には合計 12 種類のハマダラカが生息している。これらの中で生息密度や人吸血嗜好性、人マラリアの媒介能力などを考慮すると、コガタハマダラカ、オオハマハマダラカ、シナハマダラカ、オオツルハマダラカ、チョウセンハマダラカの 5 種が重要な種類であると思われる。

特にコガタハマダラカは 1960 年代まで八重山諸島で流行していた熱帯熱マラリアの主要媒介蚊であり，現在も石垣島のほぼ全域に分布しており，発生源に近い集落では成虫の飛来が確認されている．コガタハマダラカ成虫の吸血飛来個体数を決定している生態的要因に関して今後詳細な研究が必要である．オオハマハマ

ダラカ，シナハマダラカ，オオツルハマダラカ，チョウセンハマダラカに関しては，現在の生息状況はよくわかっておらず，全国的な発生状況調査が望まれる．

F. 研究発表

なし

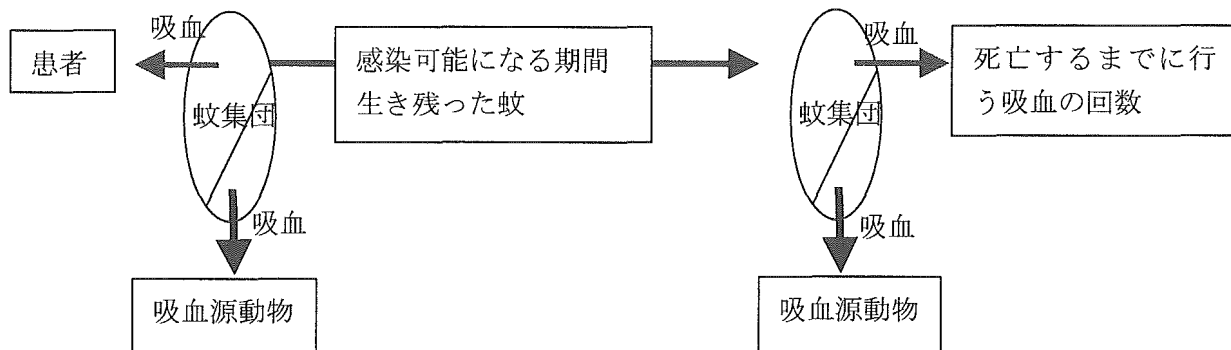
G. 知的財産の出願・登録状況

なし

表 1. 我国で生息が確認されたハマダラカの種類と国内の分布、分布域および人マラリア媒介能

種名	学名	国内の分布	分布域	媒介能
1. コガタハマダラカ	<i>Anopheles (Cel.) minimus</i>	琉球列島 (宮古, 八重山群島)	東洋熱帯区	Pf, Pv
2. オオハマハマダラカ	<i>An. (Ano.) saperoi</i>	琉球列島 (沖縄および八重山群島)		Pf
3. シナハマダラカ	<i>An. (Ano.) sinensis</i>	北海道, 本州, 四国, 九州, 対馬, 屋久島, 琉球列島, 大東諸島,	朝鮮半島, 済州島, 中国大陸, 台湾, 香港, インドシナ, たい, マレー半島, シンガポール, スマトラ, ビルマ, アッサム, アフガニスタン	Pv
4. オオツルハマダラカ	<i>An. (Ano.) lesteri</i>	北海道, 本州, 九州, 琉球列島 (奄美, 沖縄および八重山群島)	朝鮮半島, 中国南部, 香港, フィリピン, ボルネオ, スマトラ, インドシナ, タイ, マレー半島, シンガポール	Pf, Pv
5. チョウセンハマダラカ	<i>An. (Ano.) coreicus</i>	北海道, 本州, 四国, 九州	朝鮮半島, 中国北部	Pv
6. タレンハマダラカ	<i>An. (Cel.) tessellatus</i>	琉球列島 (沖縄および八重山群島)	東洋熱帯区: モルッカス群島	*local
7. モンナシハマダラカ	<i>An. (Ano.) bengalensis</i>	琉球列島,	中国南部, 台湾, 香港, フィリピン, ボルネオ, ジャワ, インドシナ, タイ, マレー半島, ミヤンマー, インド東部	
8. エンガルハマダラカ	<i>An. (Ano.) engarensis</i>	北海道		
9. ヤマトハマダラカ	<i>An. (Ano.) lindesayi japonicus</i>	北海道, 本州, 四国, 九州, 対馬, 屋久島, 琉球列島	朝鮮半島, 済州島, 中国北部	
10. オオモリハマダラカ	<i>An. (Ano.) omorii</i>	本州		
11. エセシナハマダラカ	<i>An. (Ano.) sineroides</i>	北海道, 本州, 四国, 九州, 対馬, 屋久島	朝鮮半島, 済州島, 中国北部	
12. ヤツシロハマダラカ	<i>An. (Ano.) yatsushiroensis</i>	本州, 九州	朝鮮半島, 中国北部	

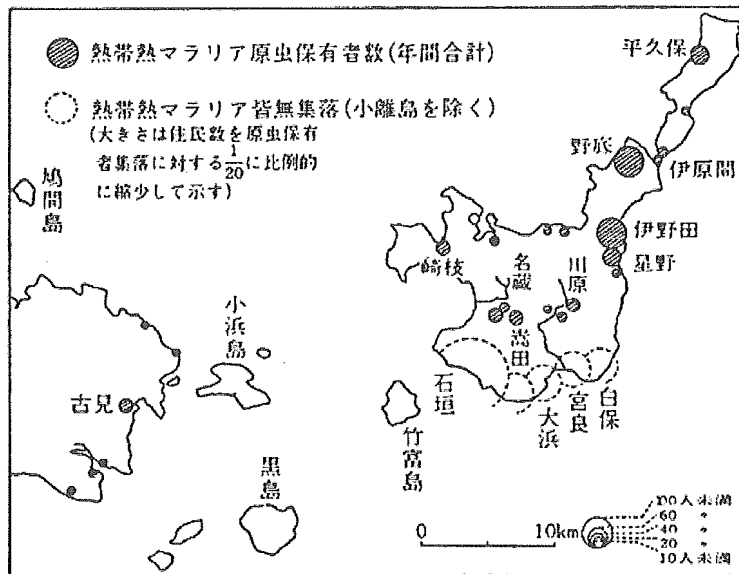
二次患者が発生するプロセス



各プロセスで蚊のマラリア媒介能力を左右する重要な生態的形質

人吸血嗜好性	生存率	人吸血嗜好性	期待余命
生息密度		生息密度	
吸血飛翔範囲		吸血飛翔範囲	

図 1. マラリア患者から蚊によって二次患者が発生する過程と媒介蚊の媒介能力に関する重要な生態的形質.



第8図 1955年八重山諸島マラリア原虫保有者分布概況

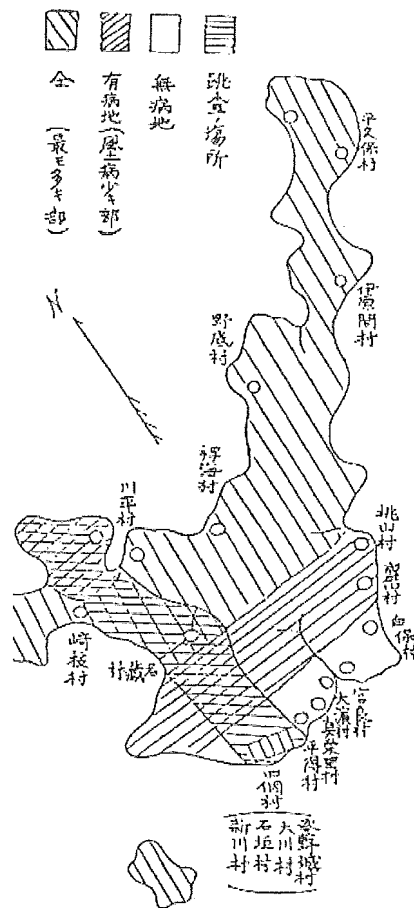


図2. 石垣島におけるマラリア患者の島内分布 (左: 1955年, 右: 1901年)

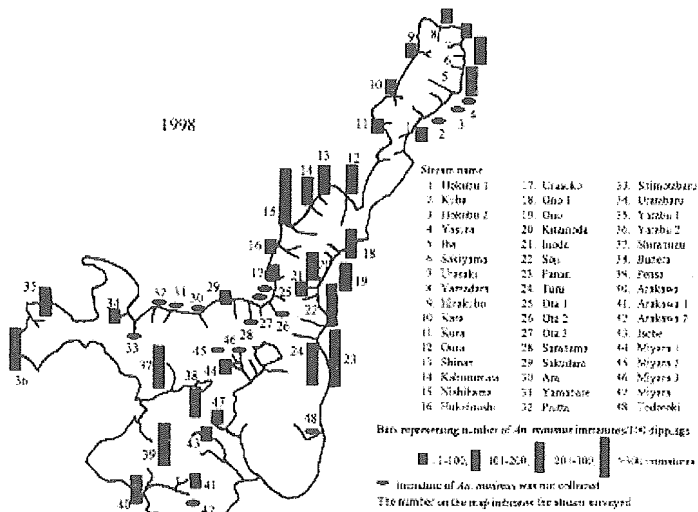


Fig. 2. Distribution and density of *Anopheles minimus* in 48 streams of Ishigaki Island, Ryukyu Archipelago, 1998.

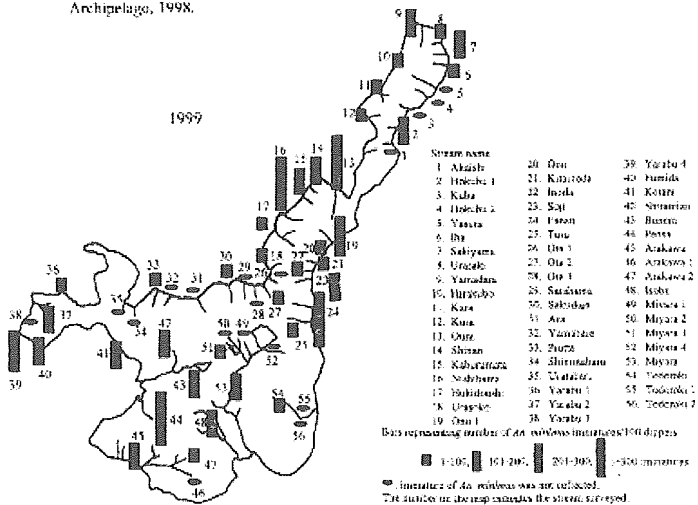
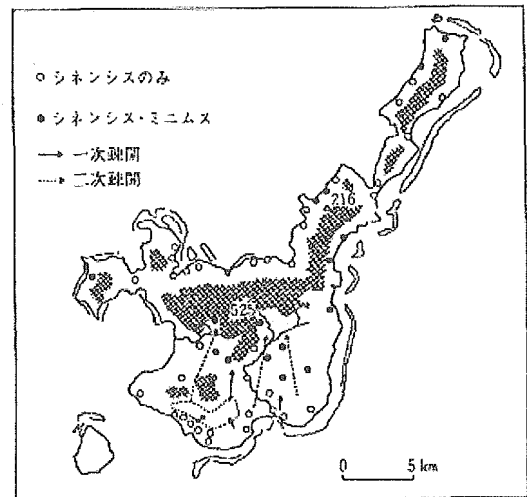


Fig. 3. Distribution and density of *Anopheles minimus* in 56 streams of Ishigaki Island, Ryukyu Archipelago, 1999.



第 6 図 アノフェレス蚊調査地点 (1946,5-6.)



第 9 図 1969年アノフェレス蚊調査地点 (1969.1-12.)

図 3. 石垣島におけるマラリア媒介蚊の分布 (左: 1998,1999 年, 右: 1946, 1969 年)

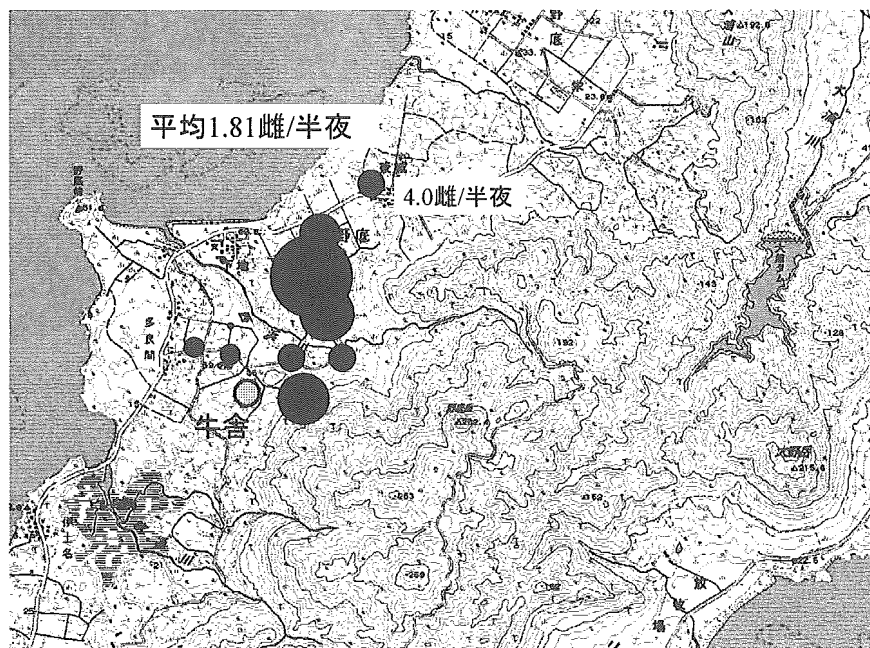


図 4. 石垣島野底地域の人囷採集結果 (1993年7月)

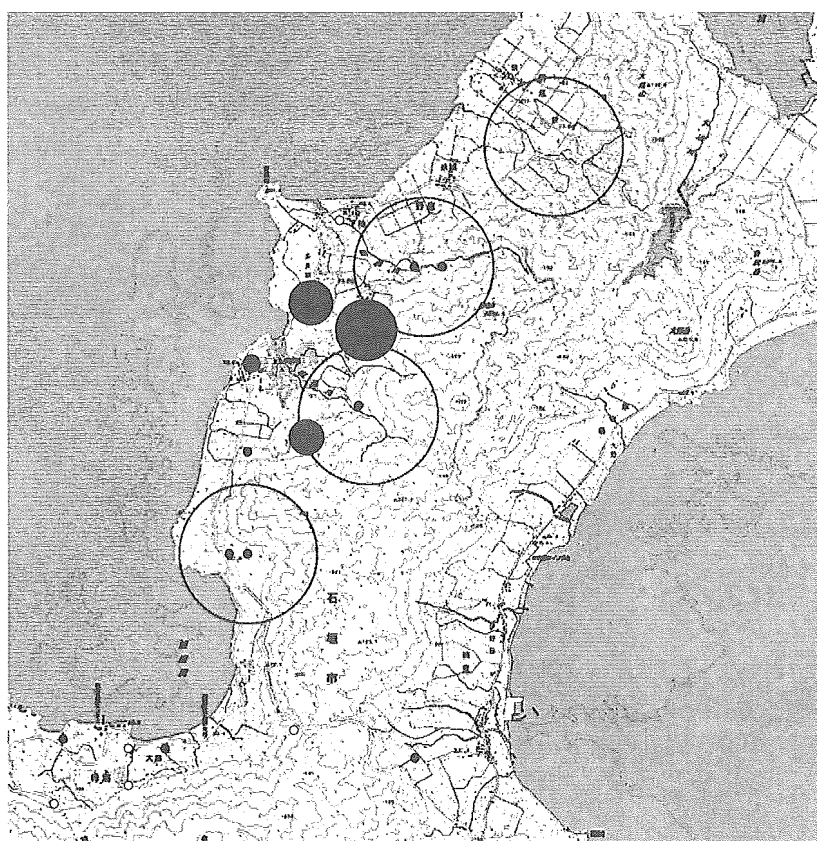


図 5. 石垣島野底一浦底地域における人囷採集の結果 (1996年7月)

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究
輸入患者情報の整理

分担研究者 木村 幹男 国立感染症研究所感染症情報センター・室長

研究要旨 わが国におけるマラリア全体としては、最近数年間は確実に減少傾向を示しているが、アフリカで罹患する熱帯熱マラリアについては、相変わらず問題が続いている。一部の地域や国につき、日本人渡航者の渡航先別マラリア罹患率を算出したが、アジアについては地域毎、国毎のマラリア罹患率をより詳細に把握することが求められる。日本人渡航者のマラリア罹患の問題を適切に把握するのは、感染症発生動向調査のみならず、他の資料も活用しての解析が重要である。

A. 研究目的

観光、ビジネス、途上国援助、学術調査などを目的とした国際交流が活発となり、大量航空機輸送の発達も相まって、日本からも熱帯・亜熱帯地域のマラリア流行地への渡航機会が増えている。また、海外からの入国者数も漸増しており、中にはマラリア流行地からの入国者も含まれている。わが国ではマラリアの伝播が断たれてはいるが、国内に媒介蚊が生息することから、輸入マラリアを契機として国内での伝播が再興する可能性もある。このため、わが国におけるマラリアの発生動向調査のデータを適切に解析して問題点を把握し、必要な公衆衛生学的施策につなげる必要がある。わが国ではマラリアは、1999年4月施行の「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（いわゆる感染症法）により、四類感染症として、診断後7日以内に届け出を行なう義務のある疾患として扱われてきた。そして2003年11月の感染症法改正では新四類感染症に規定され、直ちに届け出を行なう義務のある疾患となっている。

また、わが国におけるマラリアの再興を防ぐためには、日本から海外に出かける渡航者でのマラリア予防対策の現状、およびその問題点を正しく把握し、渡航者に対する効果的な啓発につなげることが重要である。しかし現時点で、それに関する十分なデータは得られていない。そこで今回、本年度～来年度に向けてのアンケート調査を企画した。

B. 研究方法

a. 感染症発生動向調査を中心とする解析

2004年1月～2005年12月の期間に感染症発生動向調査の元で、マラリアとして届け出がなされた

症例につき、時期、性、年齢、型、地域、国などに関する多方面の解析を行なった。ただし、2005年については、2006年2月現在の暫定データを用いた。「日本人」の定義については、最近数年間の主な居住地が日本国内となっている者とした。

日本人の渡航先別渡航者数については、以前には出国カードに記載された内容を集計して、出入国管理統計年報(法務省)として出版されていたが、これは2000年で終了した。そのため、国際観光振興機構(JNTO)が2006年1月に公表した報道資料「訪日外客数・出国日本人数(2005年12月及び年計推計値、10月暫定値)」(<http://www.jnto.go.jp/info/statistics/pdfs/20060117monthly.pdf>)の「2000～2004年各国・地域別日本人訪問者数」を参照した。これは世界貿易機関(WTO)、太平洋アジア旅行協会(PATA)、各国政府観光局などのデータを元にしたものであるが、多くの国では日本人の国境到着者数として把握している。ただし地域毎にみると、アジアでは多くの国が日本人訪問者数を報告しているが、アフリカでは報告していない国が多く、オセアニアでも、マラリア高度流行国のパプアニューギニアやソロモン諸島は報告していない。

なお、感染症発生動向調査の元での国立感染症研究所感染症情報センターへの届け出は、個人を特定できない形でなされているので、倫理面での問題はないと判断される。

b. 日本人海外渡航者のマラリア予防に関する調査

国際旅行医学会(ISTM)の主要メンバーは、世界各地にて渡航者を対象としたKAP(Knowledge, Attitudes, Practices)アンケート調査を行なってきたが、我々もそれを行なうことを企画した。しかし、

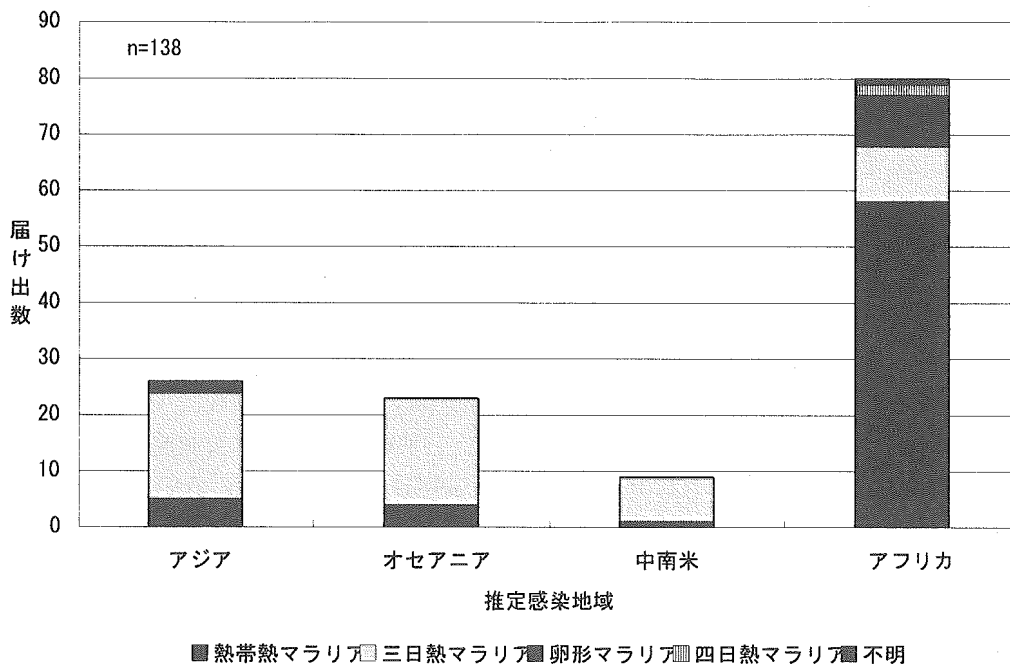


図 1. 2004～2005 年のマラリア届け出症例における推定感染地域別・型別分布

ISTM レベルでの調査は空港出発ラウンジで行われたが、わが国では空港当局の許可が得られないことが判明した。そこで、ワクチン接種のために空港検疫所を訪れる者の中で、過去にマラリア流行地へ渡航した者を対象とし、その時のことの記憶を元に記入していただく形とした。

初めに、ISTM レベルでの本調査の中心であるチューリヒ大学 Steffen 氏に、上記の形でアンケート調査を行なうことにつき問い合わせ、承諾を得た。そしてアンケート用紙を入手し、その日本語化を試みた。また、アンケート調査の場を決定する作業を開始した。

さらに、既にヨーロッパ(ブリュッセル、ミュンヘン、アテネ、ミラノ、アムステルダム、マドリード、ストックホルム、チューリヒ、ロンドンの 9 空港)、米国(ニューヨークの 1 空港)、アジア/オーストラリア(メルボルン、クアラルンプール、シンガポール、ソウル、台北の 5 空港)で本調査が行われ、論文発表されているので、その発表内容を詳細に把握することを試みた。

なお、本アンケート調査への参加は全くの任意であり、個人が特定されない形であるので、倫理面での問題はないと判断された。

C. 研究結果

a. 感染症発生動向調査を中心とする解析

マラリアの届け出は 2004 年には 76 例、2005 年(暫定データ)には 67 例であり、この 2 年間の合計は 143 例であった、このうち、推定感染地が国外と

記載されたものは 141 例(99%)であった。残り 2 例の推定感染地についての問い合わせは、行われていない。最近数年間の主な居住地が日本国内とされているものが 86 例(60%)、その他(日本国外)が 49 例(34%)、不明が 8 例(6%)であった。

死亡例としては 2004 年に、69 歳男性と 27 歳男性の 2 例が報告されていた。前者はアフリカ、後者は東南アジアでの感染であり、両者ともに熱帯熱マラリアであった。

時期的には夏～初秋、特に 8～10 月や、春の 3 月に多かったが、2004～2005 年ではそれ以前に比べてマラリアの届け出数が減少しているためか、以前に比べて時期的傾向は薄れていた。また男女比は 1:0.4 で、男性が多かった。

年齢については、全体での平均が 36 歳で、男女間で有意差はなかった。年齢群別では 20～39 歳が 57.3%に上ったが、10 歳未満(4%)と 60 歳以上(8%)もみられた。小児マラリア(15 歳未満)としては 5 歳未満 2 例を含む 6 例(4%)の報告があり、主な居住地はすべて国内であった。これらの推定感染地はすべてアフリカで、型別では熱帯熱マラリア 4 例、卵形マラリア 2 例であった。2005 年の 5 歳の 1 例を除いた全てに、「家族に同様の症状を呈した者あり」との記載がみられた。

都道府県では、人口の多い東京都(44 例)からの届け出が多く、神奈川県、愛知県、大阪府でも二桁台の届け出が見られた。

型別では熱帯熱マラリア 48%、三日熱マラリア 42%、卵形マラリア 6%、四日熱マラリア 2%、型別不明 2%

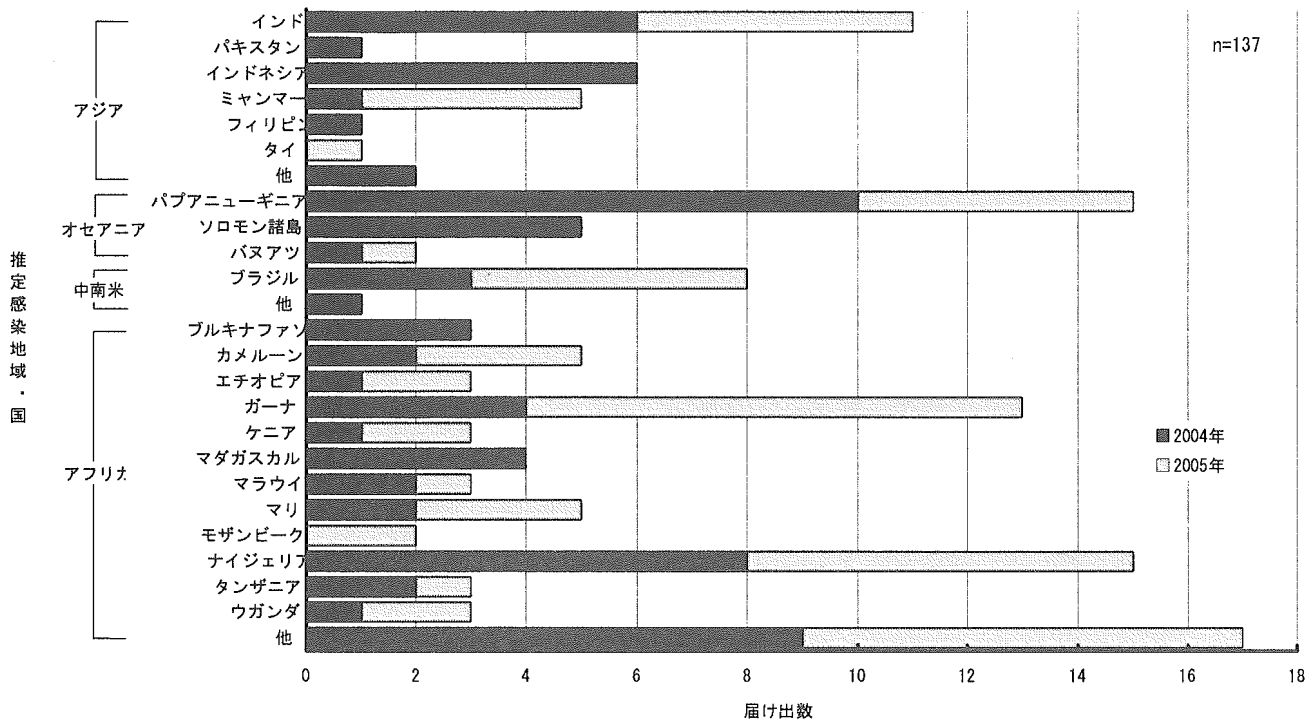


図2. 2004年～2005年のマラリア届け出症例における推定感染地域・国

他: 当該地域の他の国, および既出の国を含む当該地域の複数国

の順であった。以前に比べて型別不明の割合は明らかに減少しているが、相変わらず年間1～2例がみられている。また、この2年間を比べると、熱帯熱マラリアが12%増加し、三日熱マラリアが10%減少していた。

推定感染地域はアフリカ79例、アジア27例、オセアニア22例、中南米9例、その他と不詳が計6例であった。アフリカを推定感染地とする症例では、熱帯熱マラリアが72.5%を占め、三日熱マラリア12.5%、卵形マラリア11.3%、四日熱マラリア2.5%であったが、アジアでは逆に三日熱マラリアが73.1%と大半を占め、熱帯熱マラリアは19.2%、卵形マラリアは3.8%、四日熱マラリアはなしであった(図1)。また、オセアニアでは熱帯熱マラリアが17%、三日熱マラリアが83%であり、南米では1例の熱帯熱マラリアをのぞき、すべて三日熱マラリアであった。

図2には、推定感染国別(主な国のみ)にみた時の届け出数を示す。アジアではインドが最も多かった。インドネシアでは2004年には届け出がみられたが、2005年にはみられなかった。オセアニアではパプアニューギニアが多かった。ソロモン諸島では2004年には届け出がみられたが、2005年にはみられなかった。中南米ではブラジルが殆どを占めた。アフリカではナイジェリアとガーナに多くみられた。

JNTOの「各国・地域別日本人訪問者数」を元に、

日本人渡航者における渡航先ごとの罹患率をみることを試みた。アフリカについては、元々日本人訪問者数を報告していない国が多いが、さらに2004年のデータが出されていない国が殆どであったので、2003年の数値を元にした。その結果、罹患率は100万人当たり約250人であった。アジアでは日本人訪問者数を報告している国が殆どであり、罹患率は100万人当たり約1人であった。オセアニアについては、マラリア高度流行国のパプアニューギニアやソロモン諸島が日本人訪問者数を報告していないので、罹患率を算出できなかった。中南米でも、日本人訪問者数を報告していない国がある程度多かったので、罹患率を算出できなかった。さらに国別にみると、渡航者100万人当たり、アフリカではナイジェリアで約596人と高く、ケニアで約85人であった。アジアでは、インドにおいて渡航者100万人あたり約57人であった。また、インドネシアとミャンマーではいずれもマラリア届け出数がさほど多くはなかったが、罹患率を算出すると、100万人当たりそれぞれ約5人と約123人であった。中南米では、ブラジルで約66人と高目であった。

b. 日本人海外渡航者のマラリア予防に関する調査

Steffen氏から得られたアンケート用紙を日本語化するに伴い、ページ数が多くならないように、ま