

E. 結 論

本研究では、ヒト肝臓型脂肪酸結合タンパク (hL-FABP) 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用い、マラリア感染の進行に伴い尿中 hL-FABP 排出量が増加することを示した。得られた成果は従来のマラリア特異的診断法と併用することにより、マラリア患者における尿中 hL-FABP がマラリア重症化の早期予知に有用なバイオマーカーであることを示唆している。今後マラリア患者の尿中 hL-FABP 量と重症度との関連を明らかにすることにより、我が国におけるマラリア患者の予後の判定および治療に大きく貢献できるものとする。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

新垣奈々、三條場千寿、片貝裕子、服部正策、狩野繁之、Emsri Pongponratn, Srivicha Krudsood, Mario Riganti, Sornchai Looareesuwan, 松本芳嗣：脳性マラリアにおける非感染赤血球の血管外漏出および血漿成分の血管外浸出、第76回日本寄生虫学会大会、大阪大学コンベンションセンター

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

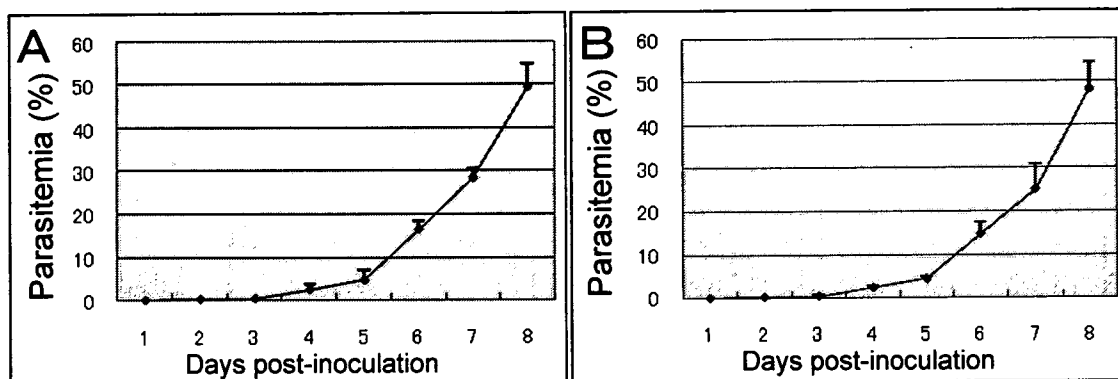
2. 実用新案登録

なし

3. その他

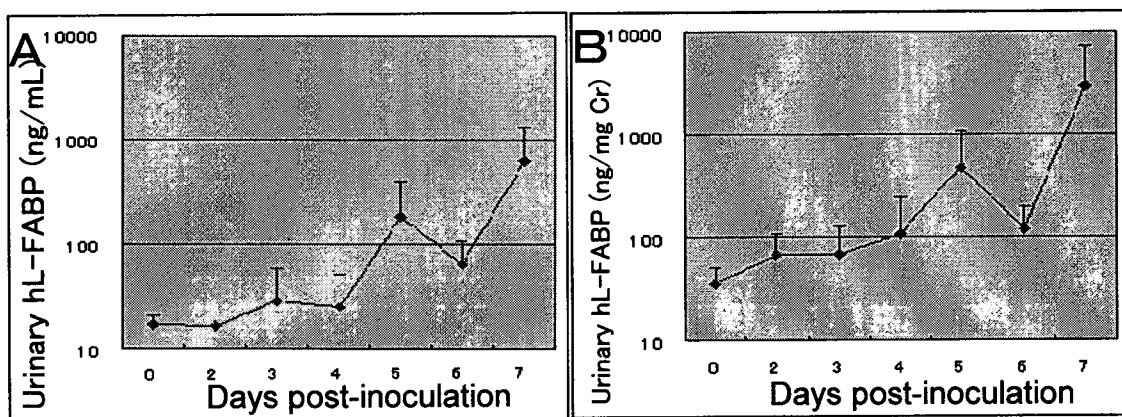
なし

図1: *P. berghei* 接種hL-FABP Tgマウス及びBALB/cAマウスにおける末梢血感染赤血球率の増加



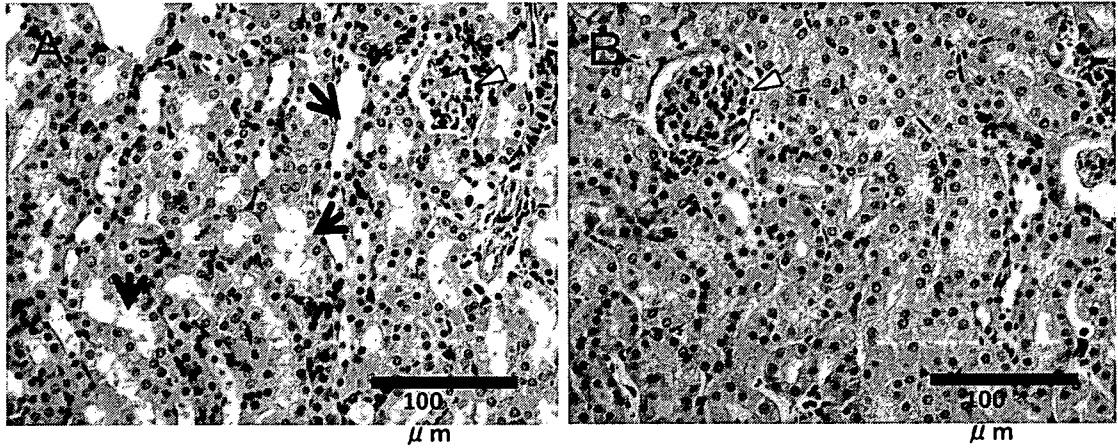
A ; *P. berghei* 接種hL-FABP Tgマウス
 B ; *P. berghei* 接種BALB/cAマウス

図2: *P. berghei* 接種hL-FABP Tgマウスにおける尿中hL-FABP排泄量の増加



A ; クレアチニン補正前尿中hL-FABP濃度
 B ; クレアチニン補正後尿中hL-FABP濃度

図3 *P. berghei* 接種hL-FABP Tgマウス及びBALB/cAマウスにおける腎臓のHE染色像



A ; hL-FABP Tgマウス腎、B ; BALB/cAマウス腎。hL-FABP Tgマウスにおいて近位尿管の拡張が観察された(矢印)。hL-FABP TgマウスではBALB/cAマウスに比べ糸球体(矢頭)の軽度の萎縮が観察された。

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

薬剤耐性マラリアの流行拡散に関する疫学研究および海外の
高リスク地域の評価に関する研究

分担研究者 小林 潤（国立国際医療センター国際協力局・厚生労働技官（医師））

研究協力者 Prataap Singhasivanon（タイマヒドン大学熱帯医学部・学部長）

Samlane Phompida（ラオス保健省マラリアセンター・所長）

Sendara Vongsouvan（ラオス大学医学部・教授）

Dong Sochet（カンボジア保健省マラリア対策センター・所長）

Irene Ayi（ガーナ大学野口記念医学研究所・研究員）

研究要旨 現在世界的に ACT（Artemisinin-derivatives Combination Therapy）の普及がマラリア対策の重要なファクターとなっているが、Combination Therapy は薬剤耐性が出現拡散する可能性は単剤投与と比較して少ないと説明されている。今年度の研究にて、ACT が低いカバー率であると、薬剤耐性マラリアの出現を助長してしまうおそれがあることがわかってきた。昨年度のラオスでの研究にて、ACT の普及は効率的におこなわれていない例もあること、さらに今年度のカンボジアでの調査では、ACT の普及が村落マラリアボランテアによって進められているがその継続性については注意が必要であることがわかった。これらのことから耐性マラリアの出現リスクを考慮して、モニタリングシステムの強化が必要であることがわかった。さらにアフリカでは、東南アジア地区に比してマラリア対策のスケールアップが公的システムの脆弱さからさらに問題があることから、ACT 耐性マラリアの出現に注意が必要であるといえる。世界的には ACT の確実な普及と薬剤耐性のモニタリングシステムの強化が急務であることがいえる。現在、邦人の海外渡航は多岐にわたり、マラリア感染のリスク地域への渡航も多い我が国としてもモニタリングと ACT の普及は邦人の健康被害を考慮すれば、積極的に関与していかなければいけないだろう。またアフリカ地域における緊急医療体制は脆弱であり、邦人の渡航において重症マラリアに対する治療については極めて深刻な状況であることもわかった。タイ国においては三日熱マラリア対策が重要になっており、周辺各国も熱帯熱マラリアにかかわって重要な要素になりつつある。三日熱マラリア対策に重要な要素である再燃、再発についてその疫学的要因は明らかにするため調査を始めたが、現時点での再発率は6%未満であり要因の解析のためには来年度の研究継続が必要となっている。

A. 研究目的

邦人が海外渡航において感染のリスクのあるマラリア感染状況の実態を薬剤耐性マラリアの拡散とその起こる背景を明らかにすること、さらに疫学的に重要性の増している三日熱マラリアについて、再発の観点から疫学的背景をさぐることを目的とする。本研究の成果をもって、日本人から海外渡航者のマラリア発生の予防や治療に関して、直接的に有用な情報が把握できる。さらには、流行各国のマラリア対策に対して指針を示すことができ、翻って、わが国の国民の健康と生命を守るための感染制御につながると考えられる。

B. 研究方法

1. タイ国マヒドン大学熱帯医学部、国際寄生虫対策アジアセンター (ACIPAC) を中心に、各国のマラリア対策の戦略と進行状況を調査した。初年度は東南アジア地域を中心に調査したが、今年度は国際寄生虫対策西アフリカセンター (WACIPAC) を協力機関として調査を加えて行った。タイ、ラオス、カンボジア保健省のマラリア対策機関とタイアップして疫学的データの入手を図った。アフリカにおいてはガーナ保健省の協力のもと対策プログラムの進行状況を把握し、感染地域の調査にてマラリア感染の実態を把握し、また首都と県レベルの医療施設を調査して邦人が現地にて治療する場合の可能性と留意点を見出した。

2. また三日熱マラリアについては、熱帯熱マラリアと異なり重要となる再発について、その疫学的背景を明らかにするために、三日熱マラリアが公衆衛生学的に問題となっているタイーミャンマー国境地域において調査を行うこととした。はじめに三日熱マラリア、再発について

関連している論文を検索し (Literature Review)、再発に影響を及ぼしていると推測される要因を明らかにした。その後マラリア感染地域での三日熱マラリア陽性者のフォローアップを行い、上記によって推測された要因を検討した。

(倫理面への配慮)

上記研究 1、2 については、研究の基盤となるタイ国マヒドン大学及びガーナ国ガーナ大学野口記念医学研究所の研究倫理委員会の承諾を得るとともに、対象患者個人全員のインフォームドコンセントを行う。また、対象患者に関するすべてのデータは本研究以外には一切使用しない。

上記研究 1 については、個人に関するデータは一切使用しない。

C. 研究結果

1. 東南アジア地域、タイ、ラオス、カンボジア、ベトナムでは ACT を治療のメインにおくことを正式に Treatment Policy として示している。具体的には ACT を推奨するが、顕微鏡下か簡易診断キット (RDT: Rapid Diagnostic Test) によって確定診断をおこなわないこととしている。また、ACT の使用は、中核医療機関のみならず、末端医療機関、村落内の治療にも推奨されている。さらに RDT による簡易診断が ACT による治療を医師でない末端医療機関従事者、村落内ヘルスポランテニアにも可能にさせている。

昨年度はラオスにおいて、実際は RCT と ACT は、末端医療機関に容易にアクセスできる地域への村落へも無償で配布されてしまっていること、さらには僻地マラリア高リスク地域には必ずしも届いていないことがあることを明らかにし、非効率な薬剤の配布が行われていることが

推定された。さらに ACT を使用しない末端での治療が、僻地においては多く行われていることを推定している。一方、今年度の調査において、カンボジアでは、村落内にヘルスポランテニアとは別に、マラリアボランテニアがマラリア高リスク地域において配置され、RCT と ACT による診断治療が急速に村落レベルで進んでいることがわかった。

一方、マラリア治療薬の薬剤耐性のモニタリングは WHO 西太平洋地区事務所が中心となって、東南アジア各国にモニタリングする定点が設定されており報告がなされている。現在までのベトナムからの報告で、Artemisinin 単剤投与の薬剤耐性は 7-50% であったと報告されたが、現在のところ ACT の耐性については、報告されていない。薬剤耐性マラリアについて注意すべき所見として、マヒドン大学を中心とした最新の研究 (Wirichada *et al.*, 2008) では、ACT のカバー率が低いことが、薬剤耐性の拡散を促す危険性があることを示唆していることがあげられた。ACT のカバー率をあげるには、効果的に ACT をマラリア感染リスク地域に普及させる必要があるが、ACT の普及を図ることに現在障害の要因として一番大きなものは、ACT の薬価の高さであると、WHO のみならずマヒドン大学やアメリカ熱帯医学会の研究グループらは警告している。現在 ACT の単価を US\$ 1 程度で普及させることが世界的に進んでいるが、それでも他のマラリア薬剤と比して高額であり、普及の妨げになっていることが指摘されている。カンボジアのように ACT の村落への普及を急速に成功させている事例もあるが、これはグローバルファンドによる ACT の普及であり、継続性については疑問の余地が残っている。つまり、外的な支援がなくなったときに

住民が自発的に ACT を行えるように公的機関の支援、安価な薬剤の供給を含めた市場の整備がととのっているとは言えない状態であるといえる。さらにラオスやミャンマーにおいては ACT のカバー率は実際には極めて低いことが予測されるので、このことが薬剤耐性の出現を促進してしまう恐れがあることは否定できない危険な状態であると推定できた。

今年度は、WACIPAC の協力の下、西アフリカ地域ガーナ国でのマラリア感染状況と邦人が感染した場合の治療体制について調査した。ガーナ国においても、東南アジア地区と同じく Roll Back Malaria にもとづく戦略 (初期診断初期治療、ITM (殺虫剤浸透蚊帳) の普及、重症治療改善) によって進められているが、依然として都市部を含め全国的に公衆衛生学的脅威となっている。一般にアフリカにおいてはコミュニティーのエンパワメントが難しいことと、それに関連して村落ヘルスポランテニアのモチベーションにばらつきがあることがよく指摘されている。今回、WACIPAC の協力のもとマラリア感染地域でのマラリア対策活動を調査することができたが、一般住民のマラリア対策にたいする興味は非常に強く、確かな知識をえようとする態度も大きかった。さらに学校をベースのコミュニティーと連動した健康教育は効果的に実施できることもわかりコミュニティーのエンパワメントは方策により効果が得られることも推測された。一方、公的なマラリアネットワーク主導のサービスは極めて脆弱で、末端保健医療機関が能動的にコミュニティーにリーチしていることが少ないといえる。これらのことから、ガーナでのマラリア感染が依然として猛威を誇っていることは、保健システムの脆弱さや、公的機関指導による政策実施能力の欠落が

大きな要因になっていることが推測された。

今回の邦人が治療を受ける可能性のある医療施設への調査によって、ガーナにおいて邦人がマラリアに感染した場合、いかに早く初期診断と初期治療を受けるかが鍵になることがわかった。RDTとACTの普及により、ガーナの医療施設においても初期診断と治療のレベルは均一されつつある。しかしながら、重症治療においてはかなり疑問視しなければいけない状況である。まずマラリア治療にかぎらず、救急医療体制は極めて脆弱で病院にアクセスできたとしても緊急に対応が行われるとはいえない状況である。唯一軍関係の病院が24時間体制で適切にスタッフを配置し対応しているが、医師は通常1名のみで、主にパラメディカルが治療にあたっているが、スタッフのレベルに格差があり重症マラリアの対応が適切におこなわれるとは限らない状況である。また当然ながら軍関係者の治療が優先される状況であった。

2. タイにおいては、熱帯熱マラリアの収束にしたがって三日熱マラリアは対策の重要な課題となっており、周辺諸国でも同様な傾向はみられつつあり、邦人の感染例もみられている。三日熱マラリアの対策においては、感染の再燃、再発は重要な点となる。昨年度明らかにした、三日熱マラリアの再発との関連にて調査すべき要因について、三日熱マラリア患者68名についてフォローアップを行った。現在のところ再発は4名であり再発率は6%未満に収まっている。

D. 考察

現在ACTの普及が世界戦略として強く打ち出されている中、今年度の調査にお

いてその普及が遅れることが薬剤耐性の出現を促してしまう可能性があることが報告されたことをつかんだ。研究者らの調査において、東南アジア地域各国において、政策としてACTが第一選択薬と取り上げられる反面、実際には末端ではその普及は思うように進んでいないことが明らかになってきた。これはACT耐性の出現に警鐘をならす状態であり、今後サーベイランスの強化が必要になると考えられた。2007年にはタイとミャンマー、タイとカンボジアの国境地域においてACTによる治療効果が落ちているとの報告もあるとの情報もある。これについては現在科学的根拠のある報告は得られていないが、追跡調査が必要な状態である。しかしながら、マラリア薬剤耐性試験は未だ*in vivo*, *in vitro* においても煩雑であることが、途上国においてはサーベイランスの強化の弊害ともなっているとの見識者の報告もあり、試験の簡便性について、さらなる改善が望まれるところであり、加えて開発された簡便な技術が適切に途上国に移転普及されるようなシステムの改良の努力も必須であろう。

また、今後東南アジア各国においては、公的マラリアネットワークの更なる強化によるACTの普及と、未だマラリア感染が問題な貧困僻地に特化した戦略をたててACTの普及を図ることが、初期治療の普及によりマラリア感染のさらなる制圧をもたらすだけでなく、薬剤耐性の出現を抑える可能性があることがわかってきた。さらにはACTの普及に継続性を持たせるためには、さらに安価なACTを供給するシステムを世界的に構築していかなければ、カンボジアのような成功例にも、逆戻りしてしまう危険が潜んでいるといえるだろう。

今回のアフリカの調査において、公的

マラリア対策システムが東南アジア地域において脆弱であることがわかってきた。したがって ACT の普及は効率よく進んでいるとはいえず、薬剤耐性の出現リスクが東南アジア地域よりも高いことも考えられる。もし ACT 耐性マラリアが出現した場合には邦人への感染にも十分に注意が必要であるといえるだろう。すなわち、国際協力等でアフリカ支援が進む中、邦人がアフリカでマラリアに感染する例も多々ある。さらには耐性のマラリアが世界的に拡散することにも注意が必要で、邦人が多く訪れる東南アジア地域への侵入についてモニタリングすることも必要になっているのではないだろうか。

E. 結論

ACT の普及が進まない現状は、ACT 薬剤耐性を出現させるリスクもあると考えられるため、ACT の普及を世界的に進める努力とその薬剤耐性についてモニタリングを強化させることは邦人の健康保守について極めて重要であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nonaka D, Kobayashi J, Jimba M, Vilaysouk B, Tsukamoto K, Kano S, Phommasack B, Singhasivanon P, Waikagul J, Tateno S, Takeuchi T. Malaria education from school to community in Oudomxay province, Lao PDR. *Parasitol Int.* 2008 ;57(1): 76-82

Khamlome B, Eto H, Mita T, Sakurai M, Saito T, Tsuzuki A, Kobayashi J, Phompida S, Kobayakawa T. The status of malaria before and after distribution of ITNs from 1999 to 2006 in two districts of Khammounae Province, Lao P.D.R. *Trop Med Health* 2007 ;35(4): 343-350

2. 学会発表

Kobayashi J. Beyond deworming: the promotion of school-health-based interventions by Japan. 100 years of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene at the Centenary Conference, London, UK, September 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

特になし

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

マラリア重症患者の管理および治療体制に関する研究

分担研究者 狩野 繁之（国立国際医療センター研究所・部長）
研究協力者 水野 泰孝（国立国際医療センター国際疾病センター・技官）
石上 盛敏（国立国際医療センター研究所・HS 研究員）
竹内 勤（慶応大学医学部・教授）
奥 浩之（群馬大学工学部・准教授）
畑生 俊光（群馬大学医学部・助教）
谷畑 健生（国立保健医療科学院・主任研究官）
Somchai Looareesuwan* (Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University Professor, deceased in July, 2007)
Srivicha Krudsood (Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University Associate Professor)

研究要旨 世界における再興感染症であるマラリアの流行拡散は止まらず、わが国からの渡航者の数や外国からの訪日者の数が増えるに従い、マラリアの防疫にかかる予防の問題、患者管理である治療の問題が山積している。特に薬剤耐性マラリア（熱帯熱および三日熱マラリア）と重症マラリアの治療にかかる医療は、わが国での質がきわめて低く、この臨床技術の開発と全国への均霑化が強く望まれるところである。これらの問題に答えてゆくために、1) マラリア予防ガイドラインの改訂とその評価研究、2) ACTの有用性に関する臨床研究、さらに3) 輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究を行い、わが国におけるマラリアの医療における最先端の臨床研究を展開している。特に、上記予防ガイドラインの改定の作業では、実施基準の項目に「渡航期間 7 日以上」という「絶対的適応」の必要条件を追加したことを特記する。さらに、マラリア新規治療法であるアーテミスニン誘導体の混合療法は、マヒドン大学の三日熱マラリア患者 98 人の治療評価研究と、日本への輸入重症マラリア患者での臨床研究を行い、それぞれに極めて優れた治療成績を収めた。今後同混合療法の日本への適切な導入が期待される。

A. 研究目的

節足動物媒介感染症の中で、蚊が媒介するマラリアは、世界で最も患者数および死亡者数が多く（それぞれ 3～5 億人、150～270 万人）、熱帯熱マラリア原虫の薬剤耐性

の出現と拡散（近年では三日熱マラリア原虫の薬剤耐性も重要課題であるが）、さらには媒介蚊の殺虫剤抵抗性の出現によって、マラリアの予防・治療・流行対策は困難を極めている。本分担研究では、特にわが国

における防疫と患者管理を大きな目的として、マラリアの個人的感染予防法・重症化予防法の確立や、薬剤耐性マラリア（熱帯熱および三日熱マラリア）の治療法、さらには熱帯熱マラリア重症患者の救命・完治に向けた新規治療法の開発研究を行い、その成果をもって国民の健康の安全確保に具体的に貢献することを目的とする。

B. 研究方法

1) マラリア予防ガイドラインの改訂とその評価研究

昨年度の「マラリア予防ガイドライン」の運用評価研究成果をうけて、本年度はガイドライン改訂を行った。改訂にあたっては、「マラリア予防専門家会議」を再編成し、実用面での改訂、特に予防内服の「実施基準」の項目に大幅な改訂を加えた。

（倫理面への配慮）

国立国際医療センターをはじめとする、旅行医学外来において本ガイドラインに沿ったマラリア予防アドバイスを行う場合には、ヘルシンキ宣言における臨床研究の基準を遵守した。ただし、本研究は薬剤治験研究には当てはまらず、マラリア予防相談者（クライアント）に対して臨床的に不利益が生ずることはないと考えられた。また、クライアントの情報の取り扱いに関しては十分な配慮を行うとともに、国立国際医療センターにおいて本研究の対象となることに対しては、クライアントから書面による同意を得ているので、倫理上の問題は発生していないと考えられる。さらに、本研究分担研究者、研究協力者、マラリア予防専門家会議議員の中に、予防内服や治療の対象となる薬剤の製造・販売にかかわる製薬会社との利害関係をもつ者はいないことも付記する。

2) ACTの有用性に関する臨床研究

薬剤耐性マラリアおよび重症マラリアに特に有効とされる青蒿素（チンハオスー／Qinghaosu : Artemisinin）誘導体との混合療法（Artemisinin-derivatives Combination Therapy: ACT）の有用性に関する臨床研究を、本年度も引き続いてタイ・バンコクのマヒドン大学熱帯医学病院との共同研究で行い、三日熱マラリアの患者に対する ACT（Coartem[®]・Novartis : artemether と lumefantrine の合剤）の有効性を評価した。

対象となったのは、急性期のマラリア患者 98 人（体重 40kg 以上、15 才以上、女性では妊婦を除外）で、治療開始時から 28 日間、同病院で経過観察を行った。

（倫理面への配慮）

本研究項目も、ヘルシンキ宣言における臨床研究の基準を遵守した。本臨床研究遂行にあたっては、事前にマヒドン大学の倫理委員会の審査を通過している。

3) 輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究

日本国内で発症したマラリア患者の臨床管理に関して、詳細な記載を行って論文にまとめることで、新しい診断・治療法の均霑化を我が国で図った。本年度の研究症例としては 2 例で、a) 国立国際医療センター/国際疾病センター渡航者健康管理室（トラベルクリニック）を訪れた日本人患者で、卵形マラリアと鑑別が困難であったアフリカからの輸入三日熱マラリアの症例報告、および、b) 琉球大学附属病院を訪れたスーダン人の患者で、アーテスネート静注（我が国では未承認の新薬：青蒿素誘導体）を用いて著明な改善を得た重症熱帯熱マラリア患者である。

（倫理面への配慮）

国立国際医療センターにおける臨床デー

タの収集に関しては、薬剤投与前に患者本人に十分な説明を行い、書面にて同意を得ている。また治療後の報告は、医療センターにおける臨床カンファレンス、セミナー、感染症学会で随時報告して、その研究の倫理面への配慮に関しても問題がなかったと了承されている。

C. 研究結果

1) マラリア予防ガイドラインの改訂とその評価研究

予防内服の実施基準における以下の文言を、概説に回した。

「(文頭以下省略) マラリアの感染リスクが高い地域に滞在する場合、欧米では予防内服を推奨することが多い(ここまで省略)。どの予防薬でも効果は100%ではないこと、副作用の発生がありうることを認識する必要がある。」

そしてその適応に関して、以下のように全面的に書き直した。

a) 絶対的適応

マラリア流行地域に滞在し、下記3項目のすべてに該当するケースを、予防内服の「絶対的適応」とする。「絶対的適応」に当てはまるケースでは、マラリアの感染、発症、重症化の危険性が高いため、防蚊対策に加えて予防内服をおこなうことが強く勧められる。

1. 熱帯熱マラリアの高度流行地域に滞在する。

通常はサハラ以南アフリカ、パプアニューギニア、ソロモン諸島、南米アマゾン川流域などがこの地域に該当する。

2. 旅行期間が7日以上である。

マラリアの潜伏期間は短くても7日であり、発症はこれ以後になる。このため、流行地域に立ち入ってから帰国するまでの期間が

7日以上である場合、海外での発症が予想される。日本国内で発症した場合は、専門医療機関を受診すれば十分な医療対応が期待できる。

3. マラリア発症時に適切な医療対応が期待できない。

マラリアは早期に適切な治療を行えば、殆どが治癒しうる疾患である。滞在先にマラリアの診断と治療を迅速かつ適切に行える医療機関があれば、重症化の可能性は低いですが、そうでなければ、死亡に至る危険性が高くなる。

b) 相対的適応

マラリア流行地域に滞在し、絶対的適応にならないケースを「相対的適応」とする。

「相対的適応」に当てはまるケースでは、マラリアに感染後発症しても重症化する危険性は低いので、防蚊対策を中心とした感染予防が勧められる。予防内服を行う場合には、マラリア感染のリスクと予防内服による副作用のリスクを十分に検討する必要がある。

2) ACTの有用性に関する臨床研究

マヒドン大学の98例の三日熱マラリア患者を、Coartem[®]での治療例47例と、従来よりの特効薬であるクロロキンによる治療例51例を対象に、治療経過を記載した。なお、Coartem[®]による治療方法は、初回4錠(20mg artemether + 120mg lumefantrine /錠)、そして8時間後、24時間後、36時間後、48時間後、60時間後にやはりそれぞれ4錠、合計24錠を経口投与。クロロキンは、25mg 塩基量/kg 体重で計算した量を3日間で経口投与。その後、両グループの患者は、肝内型のヒプノゾイトからの再発予防のために、プリマキン15mg /日を14日間経口投与した。

治療後の経過で、治療失敗例の定義は次

のいずれかの場合とした。i) 治療開始より症状の快復が無く、なおかつ原虫血症の改善も見られずに入院が必要になった場合、ii) 治療後3日目から28日目までの間に原虫血症を再び示し、なおかつ腋下体温が37.5℃以上になった場合、iii) 臨床症状に関係なく、治療後7日目から28日目までの間に原虫血症を再び示した場合。

Coartem[®]の治療群では、1例だけ治療後26日目のTreatment failureが報告され、すなわち治癒率97.4%、一方クロロキン治療群では100%の治癒率であった。発熱消失時間(Fever clearance time: FCT)は、前者で平均21.8時間、後者で平均25.3時間($P=0.12$)、原虫消失時間(Parasite clearance time: PCT)は、前者で平均41.6時間、後者で平均55.8時間($P<0.01$)であった。

Coartem[®]による主な副作用と頻度(カッコ内)は、頭痛(4.3%)、めまい(4.3%)、嘔吐(2.1%)と低く、マラリアの症状との区別もつきにくかった。

3) 輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究

症例a)に関しては、きわめてまれな臨床経過を示し、初診時からの診断が困難であった。簡単に現病歴を記載すると、患者は、修道女のミッションで平成14年11月から平成17年1月までルワンダに滞在した。それ以前の渡航歴はない。平成16年5月に、現地でマラリアに罹患した疑いがある。以降ほぼ1ヶ月ごとに発熱を繰り返し、8回にわたり現地の病院でマラリアの診断と治療を受けた。現地では、感染したマラリア原虫の種の鑑別はできなかった。平成17年1月12日に帰国し、1月20日にマラリアの再発を心配して、検査目的で当センター渡航者外来を受診した。初診時は全身状態良好で、血液塗抹標本でマラリア原虫陰性、

マラリア迅速診断キット(Now Malaria, Binax, Inc, USA)陰性であり、その他の検査所見の異常も認められなかった。ところが、2月2日に突然の38.8℃の発熱、頭痛が出現し、翌2月3日に当センターを再診した。

再診時検査所見：マラリア原虫感染赤血球を寄生率0.18%で検出し、典型的な卵形状の感染赤血球も認められた。マラリア迅速診断キットでは、三日熱マラリア、卵形マラリア、四日熱マラリアに対する共通バンドが陽性であった。患者全血を材料とした特異的PCR法では、三日熱マラリア原虫のDNAだけが増幅された。

治療は、再診時より外来でメフロキン4錠を2日に分けて投与したところ、翌日には末梢血中のマラリア原虫の消失が顕微鏡下に確認できた。しかし、メフロキンの副作用と考えられた嘔気、倦怠感が著明であったため、外来で補液、制吐剤を使用した。同副作用の症状改善を確認し、3日後よりプリマキン30mg/日を14日間投与した。その後のマラリアの再発は認められていない。

症例b)に関しては、43歳スーダン出身の女性で重症マラリアの定義を満たしており、我が国では未承認の新薬であるアーテスネート静注を用いることで救命しえた重症熱帯熱マラリア患者である。簡単に現病歴を記載すると、2006年12月4日に研修目的で来日。その時から体調不良が出現し、6日から下痢、10日より悪寒を伴う高熱が出現した。11日に近医受診し、レボフロキサシンを処方された。発熱は39~40℃と持続し、13日夜から意識朦朧となり、14日の朝には転倒した。マラリアを疑い、当院ERへ救急搬送された。治療として、メフロキン(メファキン[®]ヒサミツ)を初回は275mg錠を3錠、その後は6時間毎に2回、2錠投与した。血小板減少に対する輸血のみで、

出血症状等は認めず、他の抗 DIC 薬剤 (FOY 等) は追加しなかった。15 日午前 0 時から、アーテシニン誘導体注射薬 (Artesunate for Injection[®], Guilin Pharmaceutical No2 Factory, Guanxi, P. R. China) を、初回 120mg、12 時間後に 60mg を点滴静注で投与した。15 日 (第 2 病日) 午前 10 時には原虫の赤血球寄生率が 0.89% と低下し、22 時には殆ど確認できなかったため、3 回目以降のアーテスネート投与は施行しなかった。16 日 (第 3 病日) 以降より 39°C 以上の発熱はなくなり、18 日 (第 5 病日) 以降は解熱した。全身状態良好で DIC も改善し、20 日 (第 7 病日) に退院した。

D. 考 察

1) マラリア予防ガイドラインの改訂とその評価研究

「絶対的適応」とは積極的に予防内服を実施すべきケースで、「相対的適応」とは状況を検討した上で予防内服を実施しえるケースである、と定義した。第 2 項目の 7 日以上の旅行期間を独立させた条件としたことで、医師によるアドバイスは行いやすくなったと考えている。なぜなら、マラリアの潜伏期間は短くても 7 日であり、発症はこれ以降になるため、流行地域に立ち入ってから帰国するまでの期間が 7 日以上である場合は海外での発症が予想される。しかし、日本国内で発症した場合は専門医療機関を受診すれば十分な医療対応が期待できるため、7 日以内の旅行では予防内服の必要はなくなるからである。(もちろん、本当に我が国における医療対応が十分であるかどうかの議論が残っていることも承知している)

2) ACT の有用性に関する臨床研究

現在のアジア地域においては、三日熱マ

ラリアの分布が優勢な国が増えてきて、タイにおいても既に 51% が三日熱マラリアであると報告されている。さらには三日熱マラリアのクロロキン耐性も散見されるようになり、ファーストラインドラッグとして ACT が慎重に考慮されるようになってきている。その ACT のなかで、薬剤耐性熱帯熱マラリアの治療薬として現在アジア地域で最も市場が広く用いられている Coartem[®] に関しては、三日熱マラリアでの治療報告が少ない。今回のわれわれの報告は、薬剤耐性を含めた三日熱マラリアの治療における有用性、さらにはプリマキンとの併用両方における副作用に関する安全性について例証したものと考えられる。我が国における輸入マラリア症例としては三日熱マラリアによるものが多いことより、今後 Coartem[®] の治療が極めて必要になる局面が想像される。

3) 輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究

国立国際医療センターの輸入三日熱マラリアの治療症例 a) においては、初診時に身体所見ならびに検査所見に異常がなく、確定診断法である血液塗抹標本による原虫の検出、ならびに補助的診断法である迅速診断キットによる抗原検出も陰性であった。よって、初診時には諸検査でマラリアと診断することができず、既往歴として強く疑うマラリアの証拠も得られなかった。しかし、滞在先の疫学情報では、熱帯熱マラリアの流行が圧倒的に優勢で、卵形マラリアもまれではあるが流行しているため、これまでの繰り返した発熱の既往歴は、熱帯熱マラリアの再感染、再燃、または卵形マラリアの再発の可能性が高いと思われた。また、肝内型の原虫を殺すプリマキンによる治療を受けていないことより、卵形マラリ

アの再発の可能性もあると考え、継続した経過観察が必要と判断した。当患者に対しても、あらたな発熱時には、必ず外来を受診するように指導した。

再診時には、患者は発熱を認めなかったものの、積極的にマラリア検査を進めたことで、極めて低い寄生率のマラリア原虫を顕微鏡下に検出することができ、早期診断に結びついた。血液塗抹標本の感染赤血球の形態学的特徴、迅速診断法の結果、および滞在先の疫学情報と合わせて、卵形マラリアを最も疑った。ところが PCR 法では三日熱マラリア原虫の DNA のみが増幅されたことより、スメアの形態観察をし直したが、卵形マラリアとの鑑別は困難であった。本患者は、現地で繰り返したマラリア感染の既往が疑われており、それらの自然感染で患者が獲得したであろう免疫力によって原虫に障害が加わり、末梢血中の原虫に形態学的変化が生じていた可能性も考えられる。

最終的に本患者は三日熱マラリアの単独感染と診断し、既往歴より再発の可能性が高いと思われたが、初感染との鑑別は付かない。当然、現地で熱帯熱マラリアの混合感染があった可能性も推量されるが、間接蛍光抗体法等の血清診断も行わなかったもので、正しい判断はできない。本症例は、渡航者外来を帰国後訪れた相談者に、初診時に典型的なマラリアの臨床症状や検査所見がみられなくても、渡航歴や既往歴を深く考慮して、継続した経過観察を行うことが極めて重要であることを再確認させられた症例である。また、三日熱マラリアは、アフリカに居住する人々の多くが原虫のレセプターを赤血球膜上に持たない遺伝的素因を保有するために、その流行が地域的に限られていることが知られている。したがっ

て、正確な疫学的情報に基づいた先入観を取り除いた診断を行うことが必要であり、迅速診断法や PCR 法等の補助診断法を組み合わせ、感染したマラリア原虫種の確定を行うことが重要であると考えられた。

症例 b) においては、精神神経症状や DIC など、重症マラリアの指標を満たしていると思われた。アーテスネート注射薬は、現在のところ本邦でその使用が正式に認可されていない薬剤であるが、専門家の間ではその有用性が認識されている。WHO のガイドライン (2006) でも ACT が推奨され、2000 人以上の重症熱帯熱マラリア患者を対象にアーテシニン誘導体とキニーネの比較検討した調査で、前者に生存率増加と原虫消失時間短縮が認められ、神経学的後遺症や他の副作用は両者間に有意差はないとの報告がある。我々が文献検索した範囲では、本邦におけるアーテスネート静注での治療経験は数例と少ないものの、いずれも本症例と同様に ACT が重症マラリアに対してきわめて有効な治療方法であったと報告している。今後も重症の熱帯熱マラリアの症例において、積極的にアーテスネート静注薬を使用することが望ましいと思われる。

E. 結 論

本年度の当該分担研究では、1) マラリア予防ガイドラインの改訂とその評価研究、2) ACT の有用性に関する臨床研究、さらに3) 輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究を行い、世界における最先端の臨床研究成果を、わが国におけるマラリアの医療に導入しようと試みた。来年度はさらにつづけて改訂された新たなガイドラインの評価研究、そして ACT の有効性の検証を進展させ、わが国の国際感染症に関する政策医療の質の向上を図り、さらにその技術の

均霑化を国内で図ってゆく予定である。

G. 研究発表（分担、協力研究者にアンダーライン）

1. 論文発表

1) Yasuko Naoshima-Ishibashi, Moritoshi Iwagami, Shin-ichiro Kawazu, Sornchai Looareesuwan, Shigeyuki Kano: Analyses of cytochrome *b* mutation in *Plasmodium falciparum* isolates in Thai-Myanmar border, *Trav Med Inf Dis*, 5, 132-134, 2007

2) Srivicha Krudsood, Noppadon Tangpukdee, Sant Muangnoicharoen, Vipa Thanachartwet, Nutthanej Luplertlop, Siripan Srivilairit, Polrat Wilairatana, Shigeyuki Kano, Pascal Ringwald, Sornchai Looareesuwan: Clinical efficacy of chloroquine versus artemether-lumefantrine for *Plasmodium vivax* treatment in Thailand, *Korean J Parasitol*, 45(2), 111-114, 2007

3) 水野泰孝、工藤宏一郎、狩野繁之：確定診断が困難であったアフリカからの三日熱マラリア輸入例、感染症学雑誌、81(5), 597-599, 2007

4) 那覇唯、原永修作、比嘉太、健山正男、藤田次郎、狩野繁之：アーテスネート静注を用いて著明な改善を得た重症熱帯熱マラリアの1例、*Clinical Parasitology* 18(1), 2007

5) 狩野繁之：アーテシニン系薬剤によるマラリア治療の位置づけ、病原微生物検出情報 28(1): 7-9, 2007

2. 学会発表

1) Yasuko Naoshima-Ishibashi, Moritoshi Iwagami, Toshihide Mitamura, Sornchai Looareesuwan, Shigeyuki Kano: Analyses of cytochrome *b* mutations in *Plasmodium falciparum* isolates in Thai-Myanmar border, 2002-2005. 2nd International Conference of

the Journal of Travel Medicine and Infectious Disease, Church House, Dean's Yard, Westminster, London, UK, 12 September, 2007

2) 石橋（直嶋）康子、三田村俊秀、河津信一郎、北潔、狩野繁之：アトバコン耐性熱帯熱マラリア原虫株の *in vitro* での作製とそのミトコンドリアゲノムにおける変異の同定、第76回日本寄生虫学会大会、大阪大学コンベンションセンター、2007. 3. 29-30

3) 水野泰孝、加藤康幸、工藤宏一郎、狩野繁之：当センターにおけるマラリア予防内服処方の実績と評価、第81回日本感染症学会学術講演会、国立京都国際会館、2007. 4. 10-11.

4) 那覇唯、原永修作、中村秀太、屋良さとみ、東正人、比嘉太、健山正男、當眞弘、狩野繁之、藤田次郎：アーテスネート静注を用いて著明な改善を得た重症熱帯熱マラリアの1例、第18回日本臨床寄生虫学会、日本大学会館大講堂、2007. 6. 9.

5) 水野泰孝、加藤康幸、工藤宏一郎、狩野繁之：アーテスネート・ルメファントリン合剤（リアメット）による治療後に再燃を認めた熱帯熱マラリアの1例、第56回日本感染症学会東日本地方会総会・第54回日本化学療法学会東日本支部総会 2007 合同学会、東京ドームホテル、2007. 10. 26-27.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

研究成果の刊行に関する一覧表（平成19年度）

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|--|---|--------------------------------------|---|-------------------|---------------|------|---------|
| Eshita Y, Takasaki T, Takashima I, Komalamisra N, Ushijima H, Kurane I. | Vector competence of Japanese mosquitoes for dengue and West Nile viruses (III. Biology, Natural Products and Biotechnology) | Ohkawa J, Miyagawa H, Lee P.W. | Pesticide Chemistry. Crop Protection, Public Health, Environmental Safety | Wiley- VCH | Wein- heim | 2007 | 217-225 |
| Rivera,PT, Crisostomo BA, Villacorte EA, Escueta AD, Maekawa Y, Takagi M, Samaniego J, Ebol A, Kano S. | A study in disaster-prone malarious provinces in the Philippines (ISBN:978-4-9023 58-04-9) | Tongol-Rivera P, Kano S. | GIS and Malaria Surveillance | Free Press Co. | Tokyo | 2007 | 79pp. |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻名 | ページ | 出版年 |
|---|---|------------------|-------------|-------|------|
| Kobayashi M, Komagata O, Nihei N. | Global warming and vector-borne infectious diseases | J. Disaster Res. | in press | | 2008 |
| Kobayashi M, Kasai S, Sawabe K, Tsuda Y. | Distribution and ecology of potential vector mosquitoes of West Nile fever in Japan | J. Environ. Res. | in press | | 2008 |
| 葛西真治, 富田隆史 | Question & Answer - アタマジラ ミは増えているのでしょうか. | 健 | 37(1) | 12-14 | 2008 |
| 富田隆史 | 復活したアタマジラミ | すこやかファミリー | 575 号 | 22-23 | 2007 |
| 富田隆史, 葛西真治 | アタマジラミ症 | 健康教室 | 59(5) | 84-87 | 2008 |
| 富田隆史, 葛西真治 | アタマジラミのピレスロイド系駆 除剤抵抗性 | 週刊日本医事新報 | 4377 号 | 97-98 | 2008 |

| | | | | | |
|--|---|---------------------------------------|-------|---------|------|
| Dieng H, Satho T, Eshita Y. | The effects of male on the blood feeding behavior of the dengue vector <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae): Implications for laboratory oral feeding of <i>Aedes</i> vectors | Jpn. J. Environ. Entomol. | 18 | 17-22 | 2007 |
| Dieng H, Boots M, Tamori N, Satho T, Higashihara J, Okada T, Kato K, Komalamisra N, Ushijima H, Takasaki T, Kurane I, Eshita Y. | Effects of food, embryo density and conspecific immatures on hatchability in the dengue vector <i>Aedes albopictus</i> | House and Household Insect Pest | 28(2) | 117-127 | 2007 |
| Dieng H, Satho T, Miake F, Eshita Y. | Copepod predation and arbovirus control: potential thinning with focus on dengue epidemics | House and Household Insect Pest | 29(1) | 1-25 | 2007 |
| Kihara Y, Satho T, Eshita Y, Sakai K, Kotaki A, Takasaki T, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Lapcharoen P, Sumroiphon S, Iwanaga S, Ushijima H, Endoh D, Miyata T, Sakata A, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. | Rapid determination of viral RNA sequences in mosquitoes collected in the field | J. Virol. Methods | 146 | 372-374 | 2007 |
| Dieng H, Boots M, Higashihara J, Okada T, Kato K, Satho T, Miake F, Eshita Y. | Two-dimensional gel analysis of midgut proteins of the dengue vector <i>Aedes albopictus</i> with reference to meal status | Med. Vet. Entomol. | 21(3) | 278-283 | 2007 |
| Yoshi M, Mine M, Kurokawa K, Oda T, Kato K, Ogawa Y, Eshita Y, Uchida K. | Human blood feeding activity of female hybrids between <i>Culex pipiens pipiens</i> and <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> (Diptera: Culicidae) | Bull. Nagasaki Univ. Sch. Health Sci. | 20(1) | 91-93 | 2007 |
| 江下優樹, Srisawat R. | デング熱とシマカ 特集「熱帯病と昆虫」 | 昆虫と自然 | 42(3) | 14-17 | 2007 |

| | | | | | |
|--|---|--------------------------|------------------------|---------------------------|------|
| 江下優樹, 牛島廣治 | デングウイルス, ウエストナイルウイルス. 世界的にみた感染症の検査法 | 臨床と微生物 | 34(4) | 287-294 | 2007 |
| 江下優樹, Srisawat R, 高崎智彦, 水田英生, 井村俊郎, 内田幸憲, 小林睦生, 高島郁夫, 牛島廣治, 倉根一郎 | ウエストナイルウイルスにおける吸血昆虫とウイルス増殖 | 日本獣医学会家禽疾病学分科会会報 | 15 | 3-12 | 2007 |
| 江下優樹 | 海外旅行中に蚊に刺された! 蚊が媒介する病気にはどんなものがある? -マラリア, デング熱, 日本脳炎, ウエストナイル脳炎-. (特集: 意外と知らない!? 感染症) | チャイルドヘルス | 10 (11) | 764-767 | 2007 |
| Mizuno Y, Kotaki A, Harada F, Tajima S, Kurane I, Takasaki T. | Confirmation of dengue virus infection by detection of dengue virus type 1 genome in urine and saliva but not in plasma | Trans R Soc Trop Med Hyg | 101 (7) | 738-739 | 2007 |
| Nawa M., Machida S, Takasaki T, Kurane I. | Plaque formation by Japanese encephalitis virus bound to mosquito C6/36 cells after low pH exposure on the cell surface | Jpn. J. Infect. Dis. | 60 | 118-120 | 2007 |
| Dewi BE, Takasaki T, Kurane I. | Peripheral blood mononuclear cells increase the permeability of dengue virus-infected endothelial cells in association with downregulation of vascular endothelial cadherin | J Gen Virol | Mar. 89 | 642-652 | 2007 |
| Ito M, Yamada K, Takasaki T, Pandey B, Nerome R, Tajima S, Morita K, Kurane I. | Phylogenetic analysis of dengue viruses isolated from imported dengue patients: possible aid for determining the countries where infections occurred | J Travel Med. | July- Aug. 14(4) | 233-244 | 2007 |
| Tajima S, Nukui Y, Takasaki T, Kurane I. | Characterization of the variable region in the 3' non-translated region of dengue type 1 virus | J Gen Virol. | Aug; 88(8) | 2214- 2222 | 2007 |
| Tajima S, Takasaki T, Kurane I. | Characterization of Asn130-to-Ala mutant of dengue type 1 virus NS1 protein | Virus Genes | Feb. 21 | Epub ahead of print | 2008 |

| | | | | | |
|---|--|------------------------------------|----|---------------|------|
| Nerome R, Tajima S, Takasaki T, Yoshida T, Kotaki A, Lim CK, Ito M, Sugiyama A, Yamauchi A, Yano T, Kameyama T, Morishita I, Kuwayama M, Ogawa T, Sahara K, Ikegaya A, Kanda M, Hosoya Y, Itokazu K, Onishi H, Chiya S, Yoshida Y, Tabei Y, Katsuki K, Tabata K, Harada S, Kurane I. | Molecular epidemiological analyses of Japanese encephalitis virus isolates from swine in Japan from 2002 to 2004 | J Gen Virol | 88 | 2762- 2768 | 2007 |
| Ishikawa T, Takasaki T, Kurane I, Nukuzuma S, Kondo T, Konishi E. | Co-immunization with West Nile DNA and inactivated vaccines provides synergistic increases in their immunogenicities in mice | Microbes and Infection | 9 | 1089- 1095 | 2007 |
| Kitai Y, Shoda M, Kondo T, Konishi E. | Epitope-Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Differentiate West Nile Virus from Japanese Encephalitis Virus Infections in Equine Sera | Clinical and Vaccine Immunology | 14 | 1024- 1031 | 2007 |
| Yamanaka A, Kosugi S, Konishi E. | Infection-enhancing and neutralizing activities of mouse monoclonal antibodies against dengue type 2 and 4 viruses are controlled by complement levels | Journal of Virology | 82 | 927-937 | 2008 |
| Konishi E, Kitai Y, Kondo T. | Utilization of Complement-Dependent Cytotoxicity to Measure Low Levels of Antibodies: Evaluation in a Model of Japanese Encephalitis Nonstructural Protein 1 | Clinical and Vaccine Immunology | 15 | 88-94 | 2008 |
| Nawa M, Pan C-Y, Tsai W-H, Chan C-D, Machida S, Takasaki T, Lim CK, Harn M-R, Kurane I. | Evaluation of immunoglobulin A-capture enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of dengue virus infection | Dengue Bulletin | 30 | 157-161 | 2006 |

| | | | | | |
|---|--|-----------------------|--------|---------|------|
| Nawa M, Machida S, Takasaki T, Kurane I. | Plaque formation by Japanese encephalitis virus bound to mosquito C6/36 cells after low pH exposure on the cell surface | JIID | 60 | 118-120 | 2007 |
| Nonaka D, Kobayashi J, Jimba M, Vilaysouk B, Tsukamoto K, Kano S, Phommasack B, Singhasivanon P, Waikagul J, Tateno S, Takeuchi T. | Malaria education from school to community in Oudomxay province, Lao PDR. | Parasitol Int | 57(1) | 76-82 | 2008 |
| Khamlome B, Eto H, Mita T, Sakurai M, Saito T, Tsuzuki A, Kobayashi J, Phompida S, Kobayakawa T. | The status of malaria before and after distribution of ITNs from 1999 to 2006 in two districts of Khammounae Province, Lao P.D.R. | Trop Med Health | 35 (4) | 343-350 | 2007 |
| Naoshima-Ishibashi Y, Iwagami M, Kawazu S, Looareesuwan S, Kano S. | Analyses of cytochrome <i>b</i> mutation in <i>Plasmodium falciparum</i> isolates in Thai-Myanmar border | Trav Med Inf Dis | 5 | 132-134 | 2007 |
| Krudsood S, Tangpukdee N, Muangnoicharoen S, Thanachartwet V, Luplertlop N, Srivilairit S, Wilairatana P, Kano S, Ringwald P, Looareesuwan S. | Clinical efficacy of chloroquine versus artemether-lumefantrine for <i>Plasmodium vivax</i> treatment in Thailand | Korean J Parasitol | 45(2) | 111-114 | 2007 |
| 水野泰孝, 工藤宏一郎, 狩野繁之 | 確定診断が困難であったアフリカ からの三日熱マラリア輸入例 | 感染症学雑誌 | 81(5) | 597-599 | 2007 |
| 那覇 唯, 原永修作, 比嘉 太, 健山正男, 藤田次郎, 狩野繁之 | アーテスネート静注を用いて著明 な改善を得た重症熱帯熱マラリア の1例 | Clinical Parasitology | 18(1) | 72-75 | 2007 |
| 狩野繁之 | アーテミシニン系薬剤によるマラ リア治療の位置づけ | 病原微生物検出 情報 | 28 (1) | 7-9 | 2007 |