

G. 研究発表

1. 論文発表 (投稿準備中)
2. 学会発表
 - 1) 新垣奈々、三條場千寿、片貝裕子、服部正策、狩野繁之、Emsri Pongponratn、Sornchai Looareesuwan、松本芳嗣：脳性マラリアで認められた非感染赤血球の血管外漏出、第47回日本熱帯医学学会、長崎ブリックホール、2006.10.11-13
 - 2) 新垣奈々、三條場千寿、片貝裕子、服部正策、狩野繁之、Emsri Pongponratn、Sornchai Looareesuwan、松本芳嗣：脳性マラリアで認められた血清成分の血管外浸出、第66回日本寄生虫学会東日本支部大会、国立感染症研究所、2006.10.21
 - 3) Nana Arakaki, Masahito Asada, Chizu Sanjoba, Yuko Katakai, Shosaku Hattori, Shigeyuki Kano, Emsri Pongponratn, Srivicha Krudsood, Mario Riganti, Sornchai Looareesuwan, and Yoshitsugu Matsumoto : Evidence of serum exudation in the brains of patients with cerebral malaria and of squirrel monkeys with experimental cerebral malaria、Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, Japan, 2007.2.1-3
 - 4) 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、2007.3.29-30
 - 5) Chizu Sanjoba, Yasutaka Osada, Masahito Asada, Sambuu Gantuya, Kousuke Negishi, Takeshi Sugaya, Eisei Noiri, Yoshitsugu

Matsumoto : Liver type fatty acid-binding protein (L-FABP) as a novel biomarker for malaria infection、Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Forty-third Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, Japan, 2009.1.7-8

- 6) 三條場千寿、長田康孝、麻田正仁、Sambuu Gantuya、根岸康介、菅谷健、野入英世、松本芳嗣：マラリアに伴う尿中肝臓型脂肪酸結合タンパク(L-FABP)の上昇、第78回日本寄生虫学会大会、法政大学市ヶ谷キャンパス、2009.3.27-28

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
特願 2008-238680
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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）
分担研究総合報告書

変容する環境の中でのマラリア媒介蚊防除対策

- 研究分担者 高木正洋（長崎大学・教授）
研究協力者 川田 均（長崎大学・講師、平成18年度）
研究協力者 前川芳秀（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・博士課程、平成19年度）
研究協力者 高野宏平（長崎大学熱帯医学研究所・産学官連携研究員、平成20年度）

研究要旨 媒介蚊の吸血習性は、感染リスクを左右する重要な要因であると共に、環境条件（吸血源の分布など）により変化する。そこで平成18年度は、マラリア媒介蚊の吸血習性について、中国雲南省とタイ北部地方の夜間成虫採集結果を分析し、種毎の現場での吸血選択の実態を明らかにした。続く平成19年度は、フィリピンにおいて過去に災害があった場所を含む5つの州でマラリア媒介蚊調査を実施し、得られたデータから有事の際のマラリア媒介蚊分布の変遷予測と対策を考えた。一方、最終年度に当たる平成20年度には、環境変化に起因するとも考えられるマラリア媒介蚊の同胞種について精査した。ベトナム山岳部のダイラスハマダラカを対象に、外部形態の再吟味と遺伝子解析を進めた結果、*An. sp. like takasagoensis*としたサンプルが、*Leucosphyrus*グループで報告されていない塩基配列を示し、系統樹内でもダイラスコンプレックスから離れた位置に付いたことから新種であると考えられた。

A. 研究目的

地球温暖化や気候変動などに代表される近年の自然環境に係る劇的な変化と、人口増加や経済活動に伴う社会環境の変容が、グローバルな蚊媒介性感染症リスクの上昇と媒介蚊自身の生理・生態的变化を生んでいるという認識から、様々な環境下でのマラリア媒介蚊の、感染リスクを左右する吸血嗜好性、危険種の分布と災害、同胞種の精査を実施し、温暖化や人・物の往来の頻繁化の中で、マラリア常在国に近い我が国のマラリア対策のあり方を考えようとした。

B. 研究方法

感染リスクを左右する吸血嗜好性については、1988年以来現在まで分担研究者らにより蓄積されてきたアジア各地のマラリア媒介蚊採集データのうち、調査方法が同一でデータ量も豊富なため、現場におけるマラリア媒介蚊の吸血選択について、それなりの信頼性を担保した比較が可能と判断された。中国雲南省（1地域）とタイ北部地方（3地域）の夜間成虫採集データを分析対象とした。我が国の南西諸島にも普通に分布しているコガタハマダラカ（*Anopheles minimus*）については特に詳細に吟味した。採集は、18時より24

時までの前半夜採集とし、各調査村の2カ所から6カ所の複数地点において、人囿を用いた採集と水牛（または牛）囿採集を併行して実施した。対象としたデータは全て屋外採集分である。

危険種の分布と災害調査は、フィリピン・ミンダナオ島の海岸に面したマラリア流行地で行った。それぞれの地域は、異なる環境（土地被覆、雨量、温度など）から構成されており、過去に自然災害（地震・津波など）があった州も含んでいた。採集方法は、前年に実施した中国雲南省の方法に準ずる。

同胞種の精査については、予備実験により *COI*, *COII*, *cit b*, *ND5*, *ND6*, *ITS* の各遺伝子座のうち、*COI* (mtDNA) 部分配列の増幅に成功したので、ベトナム各地で採集された *Anopheles* 属 *Leucosphyrus* Group (*An. dirus* s. l., *An. leucosphyrus* Con Son form ならびに *An. sp. like takasagoensis*) 52 個体について、*COI* 遺伝子座 225bp をシーケンスした。（倫理面への配慮）

蚊採集は屋外にて水牛を囿として用いたので、罹患リスクを伴う方法での採集は行っていない。一部で実施した人囿採集は、全てスタッフのみによるものである。時に住民の敷地への立ち入りや家畜の借り出しに対する合意を得る他は、住居内への立ち入りや聞き取り調査などによるプライバシー侵害のリスクは皆無である。以上より倫理面で特に配慮すべき調査活動は内包しないと考えられる。

C. 研究結果

感染リスクを左右する吸血嗜好性：種類構成をみると、北タイの3カ所間に

は共通の種構成がみられるが、環境はBTが、*An. dirus* s. l. はそれなりに、また *An. minimus* は多数採集される一方、水田や沼沢地発生種の多い *An. hyrcanus* や *An. aconitus* が少ないことから最も山地的、次いで山脚型のMT、そしてMMは *An. hyrcanus* や *An. aconitus* が優占する水田地帯型といえる。一方XDは、山地の景観を呈するが、前3カ所より700kmほど北に立地することから平均気温も低く、*An. minimus* では大陸部分北限に近い。種構成も趣を異にしており、*An. annularis* や *An. nivipes* がみられない一方で、*An. philippinensis* はXDだけに現れた。

人囿に襲来した雌蚊の割合についてみると、13種の中では、*An. dirus* s. l. の人吸血割合の高さが際だっていた。次いで *An. minimus* と *An. maculatus* group の20～30%台が続いた。後は *An. splendidus* を除き10%前半かそれ以下で、水牛（牛）との比較ではこれらはほとんど人からは吸血しないと結論された。同種の吸血嗜好性に地域の変異が認められるかどうかは判然としなかったが、あっても種間の嗜好性の傾向が地域間で覆るほど大きなものではないと考えられる。吸血嗜好性は、地域的より季節的に変化する傾向が疑われたので、人囿への襲来比率を乾季と雨季に分けて比較した。季節間変動が特に顕著と思われた *An. minimus* では、採集地を問わず雨季における人囿への襲来比率の上昇が顕著に認められた。これを月別にみると11月から乾季中は%が低く推移した後、雨季に入ると顕著に上昇傾向に転じ、雨季の中間期である7、8月頃に最も人への襲来比率が高い時期が現れることが判った。

またこの季節的变化は、採集個体数の季節的変動と逆位相の関係にあることが確認された。

危険種の分布と災害調査： 合計 1,338 匹、12 種類のハマダラカを同定した。最も採集数の多かった地域は Davao del Sur で 4 種 1,142 匹を採取した。最も数が多かったものは、*An. flavirostris* で 1,061 匹、次いで *An. tessellatus* 44 匹、*An. maculatus* s. l. 35 匹であった。Zamboanga del Sur 地域では合計 11 種 116 匹を同定した。主な種は、*An. subpictus* 35 匹、*An. flavirostris* 19 匹、*An. indefinitus* 18 匹であった。Sarangani では、合計 5 種 56 種を同定した。*An. subpictus* は、約 64% を占める 36 個体であった。次いで *An. indefinitus* が 17 個体であった。Sultan Kudarat では、合計 6 種 24 個体のハマダラカを同定した。Sarangani と同様に *An. subpictus* が最も多く、*An. indefinitus* が続いた。

同胞種の精査： *An. dirus* s. l. と *An. leucosphyrus* Con Son form は同一の塩基配列であったのに対して、*An. sp. like takasagoensis* は *Leucosphyrus* グループで報告されていない塩基配列を示し、系統樹内でも *Dirus* コンプレックスから離れた位置に付いたことから、新種であると考えられた。

D. 考察

東南アジアの代表的なマラリア媒介蚊であり、我が国の南西諸島にも生息しているため、地球温暖化に伴う北への分布拡大が懸念されているコガタハマダラカ (*An. minimus*) が多い中国雲南省と北タイの成虫採集結果を分析した。*An. minimus* は何れからも採集された。全

体の種類構成には山地型 (BT)、山脚型 (MT)、水田地帯型の特徴が現れていた。この結果は、景観とよく符合している。自然条件下での吸血における人嗜好性については、*An. dirus* s. l. の人吸血割合の高さが際だっていた。次いで *An. minimus* と *An. maculatus* group が続いた。これら以外の 10 種はほとんど人からは吸血しないと結論された。吸血嗜好性の地域的変異は判然としなかったが、あっても人に対する嗜好性の種間順位を覆すほど大きなものではないと考えられる。一方、同じ種内でも季節的には水牛や牛に対する人への相対的な襲来比率が大きく変化する事実が検出された。この傾向は、*An. minimus* や *An. aconitus* では特に明瞭に、しかも同じ傾向として確認された。即ち、いずれの採集地でも採集個体数の多い乾季には人への襲来割合が低く、採集個体数が少ない雨季の襲来割合が高くなった。原因については今のところ不明だが、両季節間で宿主側の条件、例えば皮膚の表面温度や呼吸量などに違いが有るのか、または蚊側に吸血嗜好性の異なる季節型が生じたり、個体群としての吸血行動が変化するのか、それらのいずれかであろう。このようなことは従来報告されておらず、原因が後者であればその理由を含めて大変興味深い。

同様のマラリア媒介蚊の棲息状況を、自然災害を被った地域を含むフィリピン・ミンダナオ島の臨海部で行ったのが二年次である。この調査で最も数が多かったものは *An. flavirostris* であった。また数は少ないが *An. litoralis* も 3 地域で採取されており、この 2 種はフィリピンにおける重要なマラリア媒介蚊である。さらに *An. subpictus* と *An.*

maculatus s. l. は、フィリピンを含む東南アジアにおいて汽水域と丘陵地のマラリア媒介蚊として知られている。これらのことから、調査地域におけるマラリア流行には、この4種類が関与していると推測される。本調査地は、海岸と丘陵地の距離が近いために複雑なマラリア感染環が成立していることがわかった。このような場所で津波が起こった場合、*An. litoralis* と *An. subpictus* の分布域が広がり、被災キャンプを海岸あるいは丘陵地に設営しても深刻なマラリア感染環が成立することになる。これらを防ぐためには、災害発生前に十分な媒介蚊調査を行い、その分布、吸血嗜好性、発生源などを特定する。災害時にはそのような場所を避け、避難場所が一箇所に集中することを避けるための計画を入念に立てるなどがあげられる。さらに予防薬、蚊帳、忌避剤などの効果が十分発揮されるような能力開発も必要となる。

An. dirus s. l. と *An. leucosphyrus* Con Son form は同一の塩基配列であったのに対して、*An. sp. like takasagoensis* は *Leucosphyrus* グループで報告されていない塩基配列を示し、系統樹内でも *Dirus* コンプレックスから離れた位置に付いたことから、新種であると考えられた。*An. takasagoensis* はその名のとおり台湾の山岳部で記録されたものである。このことから今回の結果は、この種についてのより詳細な分布実態解明の必要性を示唆するもので、場合によっては温暖化の流れの中で我が国の南部に対するリスクも考慮すべき事態が生じないとは言えない。今後の課題として、とりあえず増幅に成功していない *ITS* や *ND5* の遺伝子座についても DNA シーケンスを試み、信頼度の

高い系統樹を作成することが望ましい。

E. 結論

中国雲南省と北タイで収集したマラリア媒介蚊の夜間成虫採集結果を分析した結果、*An. dirus* s. l. の強い人嗜好性、続く *An. minimus*、*An. maculatus* の中庸の人嗜好性、他の種の水牛(牛)嗜好性が確かめられた。また吸血嗜好性の季節的变化が検出された。*An. minimus* では、個体数の多い乾季には人への嗜好性が低く、個体数の少ない雨季には明らかに高かった。我が国でも南西諸島には普通に棲息している *An. minimus* の動向に注意を払う必要が改めて示唆された。

フィリピン・ミンダナオ島の海岸と山地では、両地域間の距離は近いために、海岸性と山地性のマラリア媒介蚊4種が同時に採取された。このことから本調査地のマラリア感染環は非常に複雑であり、津波などの災害時対策では海岸発生種の分布拡大が、山地性媒介蚊とのリンクを増す方向にならぬよう特別な配慮が必要なが判った。これらの知見は山地が海に迫る地形が多い我が国の災害時対策におけるひとつの留意点ともいえる。

ベトナムでは台湾の山岳部で記録された *An. takasagoensis* に酷似した新種が記録された。温暖化の流れの中で我が国の南部に対するリスクも考慮すべき事態が生じないとは言いきれないので、この種についてのより詳細な分布実態解明が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Pilarita T. Rivera, Bobby A. Crisostomo, Elena A. Villacorte, Aleyla D. Escueta, Yoshihide Maekawa, Masahiro Takagi,

Jocelyn Samaniego, Antonietta Ebol,
Shigeyuki Kano: GIS and Malaria
Surveillance, A study in disaster-prone
malarious provinces in the Philippines.
(Pilarita Tongol-Rivera and Shigeyuki Kano
eds.), Free Press Co., Tokyo, 2007,
79pp., ISBN978-4-902358-04-9

2. 学会発表

Rivera Pilarita T., Crisostomo Bobby A.,
Villacorte Elena A., Escueta Aleyla D., 前川
芳秀、高木正洋、Samaniego Jocelyn, Ebol
Antonietta, 狩野繁之: フィリピンの被
災地域における地理情報システムによる
マラリアサーベイランス, 第48回日本熱
帯医学会大会, 2007年10月12-13日, 大
分

高野(竹中)宏平, Thi Hong Ngoc Nguyen,
Thi Huong Binh Nguyen, Duc Manh Nguyen,
高木正洋: DNA シーケンスによるベトナム
産ハマダラカ *Leucosphyrus* グループ 1 新
種の確認. 第60回日本衛生動物学会, 下
野市, 2008年4月17日-19日.

Takano K, Nguyen T.H.N, Nguyen T.H.B,
Takagi M.: Molecular evidence of a new
species of the Dirus Complex of *Anopheles*
(Diptera: Culicidae) from Northern Vietnam.
Asian-African Research Forum on Emerging
and Reemerging Infections. December 15-16,
2008, Sapporo, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特になし
2. 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）
分担研究総合報告書

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

研究分担者 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 Pratap 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 東南アジア地域の熱帯熱マラリアの感染は1990年代の後半に開始されたメコン圏マラリア対策事業として収束にむかい、一部僻地の感染に限局されつつある。これは、ACT; Artesunate Combination Therapyによる初期治療を含んだ総合的マラリア対策の普及によるところが大きい。ACTの不完全な普及は耐性マラリアの出現を助長する危険性があることが現在指摘されている。我々のラオスにおける僻地での調査では、ACTによる初期治療は村落ボランティアによって管理・施行され無料配布されているが、実際にはアクセスが難しい地域においては配布が適切に行われず現状があることがわかった。これらの改善のためにマラリア対策は僻地を重視した対策へとシフトされてきているが、実際にはそのアウトリーチ活動の難しさから、十分な改善にはつながっていないことがわかった。

そこで最終年度において貧困対策との関連において解析を行った。なぜならば僻地の大部分は貧困地域と一致しており、これらの地域は貧困対策の対象地域となっているからである。現在、貧困対策のなかでマラリアの初期治療は改善されている地域があるものの、その財源の不確定さから現在までの成果が容易にこれらの地域へのスケールアップにつながるとはいえず、貧困・僻地のマラリア感染は容易には改善されずとは想定できず、しばらくはマラリアの流行は続くであろうと予想され、邦人の渡航において継続的な注意が必要であることがわかった。

一方、アフリカ地域のマラリア感染は、アジアと比較して制圧にはいっておらず、首都に限局した渡航においても注意が必要な状態が続いている。これは、ベクターの違い等、生物学的な要素もあるが、保健システムの脆弱性等の公衆衛生学的要素が大きいことは大きな要因となっていると考えられた。このため邦人の渡航における感染のリスクは引き続き大きい状態が続くと予想された。

またアジアにおいて、新たに問題となっている三日熱マラリアの感染については、再

発・再燃が常に問題となるが、この背景においては不適切な投薬が関連していると推定された。このため、これに関しては更なる研究の必要性和、邦人が受診する機会の多い現地医療機関や国内の医療機関での治療体制を整える必要も高いと考えられた。

A. 研究目的

現在、ACTによる早期治療を戦略の一つにしたマラリア対策の世界的試行によって、東南アジア地域、中南米地域では制圧に成功している。

このようななかで、東南アジアにおける残されたマラリアの流行地域は貧困・僻地に限定されつつある。一方、邦人の海外渡航のスタイルは多岐にわたっており、アジア地域の貧困・僻地やアフリカ地域への渡航が増えている。このため邦人のマラリア感染防御のため、アジア貧困・僻地及びアフリカ地域での有効なマラリア対策について検証する。

またアジア地域においての熱帯熱マラリアの制圧の成功によって、三日熱マラリアが新たな問題となっている。三日熱マラリア対策には再発・再燃を常に考慮する必要があるが、その疫学的背景は明らかになっていない。本研究では三日熱マラリアの疫学的背景を明らかにして、邦人感染のリスクを軽減することを目的とする。

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)、国際寄生虫対策西アフリカセンター(WACIPAC)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。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で治療する場合の可能性と留意点を見出した。さらにアジア貧困僻地におけるマラリア対策の現状と問題点を明らかにするために、ラオス・カンボジアにおいて保健政策策定者・マラリア対策策定者とともに貧困僻地の行政機関従事者・医療機関従事者・ヘルスボランティアにインタビューを実施した。さらにラオスにおいてはマラリア対策政策と貧困削減戦略とを比較検討を行った。

2. 三日熱マラリアの再発・再燃に関する疫学調査においては、2007年5月より2008年10月の間、タイ国、ラーチャブリー県、スアンプンにある Rajanagarindra Tropical Disease International centre (RTIC) を来訪した患者のうち顕微鏡診断にて三日熱マラリア陽性と診断(熱帯熱マラリアとの mixed infection は除く)された患者で3歳以上を対象とし、研究の趣旨を説明後、参加に同意する患者のみを本研究の研究対象とした。

C. 研究結果・考察

1. マラリア薬剤耐性について

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於いて現在の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からは警告している。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べて高額であり、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。

2. アフリカでの邦人が受けるマラリア治療の体制について

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

たが、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。

3. アジア貧困僻地におけるマラリア対策

貧困削減戦略ペーパーとマラリア対策戦略ペーパーについて大きな相違点はなかった。しかしながら、マラリア対策戦略のなかで特に貧困層にたいする対策が特化されているとはいえないこと、また貧困指定郡における聞き取り調査で以下の問題点が明らかにされた。1 ; 僻地の貧困住民が残されたマラリア対策の重点地域であるが、初期診断・治療、健康教育、蚊帳の普及とともに十分にアクセスされていない。これはマラリア初期診断・治療については無償で行われることになっているが、情報伝達と配給システムが整備されておらず実際には行き届いていない。2 ; ヘルスポストにおける治療は一部の

郡において改善されているが、これは Equity Fund 等の普及によるものであるが、マラリア対策との連携はなされていない。3 ; 健康教育は少数民族の言語を使用した教育機材の作成等が行われており進展を示しているが、公的保健機関が主導であり住民の自主性を促す戦略が実施となっておらず実際には十分な行動変容は得られていない。4 ; 以上のサービス改善のための僻地へのアクセスに十分な予算付けがなされていない。

4. 三日熱マラリアの再発・再燃に関する疫学調査

合計 216 人 (DOT グループ 109 人、SAT 107 人) を対象とした。男性/女性比は 130/86

(DOT 64/45, SAT 66/41) 平均年齢 22 歳であった。90 日間の追跡期間中に三日熱マラリア再現のエピソードは 18 (うち 3 例は 2 回再現) reappearace rate は 6.94 % (2 回目の再現は含まず) であった。三日熱マラリア再現を Directly Observed Therapy (DOT) グループ、Self Administrate Therapy (SAT) グループの投薬方法別に Kaplan-Meier survival curve を算出して比べてところ有意差が見られた。(Log-rank test: $p = 0.021$)

各関連因子について多重解析 (Multivariate Cox's Proportional Hazard Regression) を行った結果、投薬方法 (HR: 9.33, $p = 0.011$)、投薬開始までの発熱日数 (HR: 0.19, $p = 0.018$)、マラリア診断時のパラサイト数 (HR: 6.52, $p = 0.002$)、初回感染時の多遺伝子型感染の有無 (HR: 3.84, $p = 0.036$)、三日熱マラリア治療開始後の熱帯熱マラリア感染の有無 (HR: 11.36, $p = 0.037$) が、三日熱マラリア再現となんらかの関係をもつ可能性が示唆された。

D. 結論

邦人のマラリア感染のリスク回避のためには現時点ではマラリア感染が未だ蔓延している貧困僻地をさけることが最も有効であることはいうまでもない。その地域が近年中に改善されるとはいえない状況であるため、十分な注意が必要である。

また三日熱マラリアの感染については、適切な医療機関での治療を受けることが必要であることはいうまでもない。特に、その不十分な投薬は再発・再燃に関連していると本研究で推定されたため、今後更なる研究の継続が必要であろう。治療指針の策定とその徹底がマラリア流行がある現地中核医療機関や邦人が主に受診する外国人専用の医療機関、さらに日本での医療機関でも行われる必要があるだろう。

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. Malaria education from school to community in Oudomxay province, Lao PDR. Parasitol Int. 2008 Mar;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

J Kobayashi, M Jimba. What lessons Africa might learn from Asia ? International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Jeju, Korea, October 2008

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究総合報告書

マラリア重症患者の管理および治療体制に関する研究

- 研究分担者 狩野 繁之（国立国際医療センター研究所・部長）
研究協力者 三田村俊秀（国立国際医療センター研究所・室長）
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）
木村 幹男（国立感染症研究所・室長（H17 当時））
春木 浩介（獨協大学越谷病院臨床検査・教授）
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）

Sornchai Looareesuwan (Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University・Professor, deceased in July, 2007)

Srivicha Krudsood (Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University・Associate Professor)

Pilarita Tongol-Rivera (College of Public Health, University of the Philippines-Manila・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質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、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た。1) では、マラリア予防ガイドラインの実施基準に照らし合わせ、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を訪れた相談者の内 107 人に予防用にメフロキンを投与し、55 人がフォローアップでき、そのうち 78% が予防を徹底でき、22 人には何らかの副作用が認められた。予防の徹底率の高さ、副作用の発現率の低さが注目された。これらの運用評価の成績を受けながら、同ガイドラインの改定の作業も行った。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。2) および 3) では、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（Artemisinin-derivatives Combination Therapy: ACT）の有用性に関する研究を、マヒドン大学熱帯医学部との共同臨床研究、

ならびに国立国際医療センターの輸入マラリア患者を中心とした臨床研究で行った。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 (ACT) の日本への適切な導入が強く期待される。

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: 「マラリア予防ガイドライン」の運用評価研究、および、ガイドラインの改訂を行った。改訂にあたっては、「マラリア予防専門家会議」を再編成し、特に予防内服の「実施基準」の項目に大幅な改訂を加えた。

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、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、その有用性を評価した。

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/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の症例、および、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 (わが国では未承認の新薬: 青蒿素誘導体) を用いて救命しえた重症熱帯熱マラリア患者の症例報告を行った。また、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、新しい治療法の均質化をわが国で図った。

(倫理面への配慮) 本研究は、ヘルシンキ宣言における臨床研究の基準を遵守した。国立国際医療センターの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、書面による同意を得ている。マヒドン大学の倫理委員会の審査も通過している。

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

絶対的適応に関して、以下のように全面的に書き直した。1. 熱帯熱マラリアの高度流行地域に滞在する。2. 旅行期間が7日以上である。3. マラリア発症時に適切な医療対応が期待できない。

そして、その評価研究では、a) 予防内服薬を投与した107人の内55人に予防効

果等のフォローアップができた。内 42 人 (76%) は、渡航中に指定した予防内服を行った。b) 12 人は、渡航中に予防内服を中止した。c) 1 人はアドバイスに従わずに、予防内服を行わなかった。d) 55 人中 12 人 (78%) に何らかの副作用が発生した。以上のコンプライアンスで、一人もマラリアには罹患しなかった。

2) ACT の有用性に関する臨床研究

a) マヒドン大学の 61 例の三日熱マラリア患者、54 例の四日熱マラリア患者、そして 15 例の卵形マラリア患者を、ACT で治療した。

b) 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ニンによる治療例 51 例を対象に、治療経過を記載した。

c) ACT として開発された新薬 Artequick[®] (artemisinin (80mg) + piperazine (400mg) + primaquine (4mg) / tablet) の治療効果・副作用に関する臨床試験成績を報告した。Artequick[®]被験熱帯熱マラリア患者は 65 名、対照患者 65 名は artesunate+mefloquine の標準 ACT により治療した

d) 合併症の無い熱帯熱マラリア患者 342 人、重症熱帯熱マラリア患者 217 人を artesunate+mefloquine (A+M) の ACT で治療し、28 日後までの患者原虫血症 (無性および有性原虫) の推移を観察し、ACT 治療後の軽症患者への抗ガメトサイト療法が伝播阻止のために重要であることを論じた。

e) 熱帯熱マラリア患者 718 例と三日熱マラリア患者 592 例の、入院時、アルテミシニン混合療法経過中、28 病日での白血球数の変移を調べた。

3) 輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究

a) 西アフリカ 5 カ国に滞在して帰国し、国立国際医療センターに入院した重症マラリア患者 (54 歳の日本人男性) をアーテスネートの注射薬で救命することができた。39℃の発熱、熱帯熱マラリア原虫赤血球寄生率 10%、急性腎不全、脳性マラリアを合併していた。

b) 43 歳スウェーデン出身の女性。重症マラリア。わ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治療経過を報告した。

c) 58 歳の日本人男性。シエラレオネに 3 ヶ月滞在し、入院前 2 日間の発熱を訴えていた。入院時体温は 38.6℃。原虫血症は 2.78%。重症の合併症は伴っていなかった。Coartem[®] (20mg artemether + 120mg lumefantrine /錠) で順調に治療できたが、21 日後に再燃した。Coartem[®] の空腹時投与による lumefantrine の吸収不全とそれによる再燃例であると判断した。

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：改訂したガイドラインの有用性と、メフロキニンの予防内服の安全性、有効性を例証することができた。今後本ガイドラインが広くわが国で利用されることが期待される。

2) ACT の有用性に関する臨床研究：Coartem[®]や Artequick[®] などの新薬 ACT の有用性が例証できた。今後わが国への ACT の導入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：アーテスネート静注薬を用いた

本治療研究で、少なくとも 2 人の生命を救えたことは意義が深い。今後もわが国の政策医療として、重症の熱帯熱マラリアの症例で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。ガイドラインの普及による予防の徹底、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さらに図ってゆく必要がある。

G. 研究発表 (原著論文発表のみ)

- 1) Tangpukdee N, et al: Liver profile dysfunction in patients with *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*, Korean J Parasitol 44: 295-302, 2006
- 2) Mizuno Y, et al: Chemoprophylaxis according to the guidelines on malaria prevention for Japanese overseas travelers. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 37: 11-14, 2006
- 3) Mizuno Y et al: A case of postmalaria neurological syndrome in Japan. J infect Chemother 12: 399-401, 2006
- 4) 水野泰孝、他: アーテスネート静注と血液透析による支持療法で救命しえた重症熱帯熱マラリアの 1 例、感染症学雑誌 80: 706-710, 2006

- 5) 狩野繁之: マラリア予防ガイドラインの概要、Clin Parasitol 17(1): 25-27, 2006
- 6) 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
- 7) Yasuko Naoshima-Ishibashi, et al: Analyses of cytochrome *b* mutation in *Plasmodium falciparum* isolates in Thai-Myanmar border, Trav Med Inf Dis, 5, 132-134, 2007
- 8) Krudsood S, et al: Clinical efficacy of chloroquine versus artemether-lumefantrine for *Plasmodium vivax* treatment in Thailand, Korean J Parasitol, 45(2), 111-114, 2007
- 9) 水野泰孝、他: 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
- 10) 那覇唯、他: 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
- 11) Tangpukdee N, et al: Efficacy of Artequick versus artesunate-mefloquine in the treatment of acute uncomplicated falciparum malaria in Thailand, Southeast Asian J Trop Med Pub Health, 39(1), 1-8, 2008
- 12) Tangpukdee N, et al: Gametocyte clearance in uncomplicated and severe *Plasmodium falciparum* malaria after artesunate-mefloquine treatment in Thailand, Korean J Parasitol, 46(2), 65-70, 2008
- 13) Tangpukdee N, et al: Dynamic changes in white blood cell counts in uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria. Parasitol Int, 57(4), 490-494, 2008
- 14) Francis W, et al: *Plasmodium berghei*:

Efficacy of 5-fluoroorotate in combination with commonly used antimalarial drugs in a mouse model. *Exp Parasitol*, 121, 376-380, 2009

15) Iwagami M, et al: *Plasmodium vivax* PCR genotyping of the first malaria case imported from South Korea into Japan. *J Infect Chemother*, 15, 27-33, 2009

16) Mizuno Y, et al: First case of treatment failure of artemether-lumefantrine in a Japanese traveler with imported falciparum malaria. *Jpn J Infect Dis* 62 (in press)

17) 狩野繁之：マラリアの効果的な防除等の対策研究、*Clinical Parasitology* 19(1), 2008

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

研究成果の刊行に関する一覧表（平成18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
二瓶直子	感染症とは何か	村井俊治, 渡辺興亜, 安岡善文, 岡島成行, 二瓶直子	人とわざわい 下巻	エス・ピー・ピー	東京	2007	251-264

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
Higa Y, Hoshino K, Tsuda Y, Kobayashi M.	Dry-ice trap and human bait collection of mosquitoes in the eastern part of Hokkaido, Japan	Med. Entomol. Zool	57	93-98	2006
Tsuda Y, Suwonkerd W, Chawprom S, Prajakwong S, Takagi M.	Different spatial distribution on <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> along an urban-rural gradient and the relating environmental factors examined in three villages in northern Thailand	J. Am. Mosq. Control Assoc.	22	222-228	2006
Hoshino K, Isawa H, Tsuda Y, Yano K, Sasaki T, Yuda M, Takasaki T, Kobayashi M, Sawabe K.	Genetic characterization of a new insect flavivirus isolated from <i>Culex pipiens</i> mosquito in Japan	Virology	359	405-414	2007
Roychoudhury S, Isawa H, Hoshino K, Sasaki T, Saito N, Sawabe K, Kobayashi M.	Comparison of the morphology of oocysts and the phylogenetic analysis of four <i>Ascogregarina</i> species (Eugregarinidae: Lecudinidae) as inferred from small subunit ribosomal DNA sequences	Parasitol. Int.	56	113-118	2007
津田良夫, 比嘉由紀子, 倉橋 弘, 林 利彦, 星野啓太, 駒形 修, 伊澤晴彦, 葛西真治, 佐々木年則, 富田隆史, 澤邊京子, 二瓶直子, 小林睦生	都市域における疾病媒介蚊の発生 状況調査—ドライアイストラップ を用いた2年間の調査結果—	Med. Entomol. Zool.	57	75-82	2006

津田良夫, 比嘉由紀子, 葛西真治, 伊澤晴彦, 星野啓太, 林 利彦, 駒形 修, 澤邊京子, 佐々木年則, 富田隆史, 二瓶直子, 倉橋 弘, 小林睦生	成田国際空港近接地と周辺地域の 媒介蚊調査(2003, 2004年)	Med. Entomol. Zool.	57	211-218	2006
松本令以, 植田美弥, 佐藤雪太, 比嘉由紀子, 津田良夫, 澤邊京子, 村田浩一	よこはま動物園における鳥マラリ アの発生と対策	獣医畜産新報	59	827-830	2006
澤邊京子, 佐々木年則, 星野啓太, 伊澤晴彦, 小滝 徹, 伊藤美佳子, 高崎智彦, 江下優樹, 小林睦生	日本国内における蚊からのウエス トナイルウイルス検出法の検討	Med. Entomol. Zool.	57	279-286	2006
水田英生, 森 英人, 後藤郁夫, 白石祥吾, 杉本昌生, 藤川和生	疫学調査における蚊からのフラビ ウイルス検査法についての一考察	日本検疫医学会誌		投稿中	
小曾根恵子	横浜市における蚊成虫捕獲調査一 第3報(2005年度)	ベストロジー学会誌	21(2)	53-56	2006
Onishi Y, Eshita Y, Murashita A, Mizuno M, Yoshida J.	2-diethylaminoethyl (DEAE)-dextran- MMA graft copolymer for non-viral gene delivery	Bull. Res. Center Environ. Sci.Tech. Nippon Bunri University	5	8-13	2006
Dieng H, Boots M, Eshita Y.	Some insights into the concept of body size in mosquitoes	House and Household Insect Pest	28(1)	47-62	2006
Dieng H, Boots M, Tamori N, Higashihara J, Okada T, Kato K, Eshita Y.	Some technical and ecological determinants of hatchability in <i>Aedes albopictus</i> , a potential candidate for transposon-mediated transgenesis	J. Am. Mosq. Control Assoc.	22(3)	382-389	2006
Dieng H, Boots M, Higashihara J, Satho T, Kato K, Okada T, Komalamisra N, Ushijima H, Takasaki T, Kurane I, Eshita Y.	Two-dimensional gel analysis of midgut proteins of the dengue vector <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) with reference to sex and body size	Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.	17(4)	133-141	2006

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. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.		in press	2007
水野泰孝, 加藤康幸, 工藤宏一郎, 高崎智彦, 倉根一郎	遅延する関節痛より確定診断に至ったチクングニヤ熱の本邦初症例	感染症学雑誌		in-submission	2007
Hamano M, Lim CK, Takagi H, Sawabe K, Kuwayama M, Kishi N, Kurane I, Takasaki T.	Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan	Epidemiol. Infect.		in press	2007
Imoto J, Konishi E.	Dengue tetravalent DNA vaccine increases its immunogenicity in mice when mixed with a dengue type 2 subunit vaccine or an inactivated Japanese encephalitis vaccine	Vaccine	25	1076-1084	2007
Shirayama Y, Phompida S, Kuroiwa C, Miyoshi M, Okumura J, Kobayashi J.	Maintenance behaviour and long-lasting insecticide-treated nets (LLITNs) previously introduced into Bourapar district, Khammouane province, Lao PDR	Public Health	121 (2)	122-129	2007
Noppadon Tangpukdee, Wipa Thanachatwet, Srivicha Krudsood, Nutthanej Luplertlop, Kanrchana Pompininwoakij, Kobsiri Chalermrut, Sasikarn Phokham, Chatnapa Duangdee, Shigeyuki Kano, Sornchai Looareesuwan Polarat Wilairatana	Liver profile dysfunction in patients with <i>Plasmodium vivax</i> , <i>Plasmodium malariae</i> and <i>Plasmodium ovale</i>	Korean J. Parasitol.	44	295-302	2006
Mizuno Y, Kudo K, Kano S.	Chemoprophylaxis according to the guidelines on malaria prevention for Japanese overseas travelers	Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health	37	11-14	2006

Mizuno Y, Kano Y, Kanagawa S, Kudo K, Hashimoto M, Kunimoto M, Kano S.	A case of postmalaria neurological syndrome in Japan	J. Infect. Chemother.	12	399-401	2006
水野泰孝, 藤元 瞳, 横田恭子, 加藤康幸, 源河いくみ, 金川修造, 川名明彦, 岡 慎一, 木村 哲, 工藤宏一郎, 狩野繁之	アーテスネート静注と血液透析に よる支持療法で救命しえた重症熱 帯熱マラリアの1例	感染症学雑誌	80	706-710	2006
狩野繁之	マラリア予防ガイドラインの概要	Clin. Parasitol.	17(1)	25-27	2006
狩野繁之	アーテミス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