

令和元年6月6日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05807

研究課題名(和文) タイにおけるスイギュウマラリアの分子疫学並びにその病原性解析

研究課題名(英文) Molecular epidemiological study on ungulate malaria parasites

研究代表者

麻田 正仁 (ASADA, Masahito)

長崎大学・熱帯医学研究所・助教

研究者番号：40587028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：偶蹄類マラリア原虫は近年になるまでその疫学及び系統上の位置は不明であった。スイギュウのマラリア原虫は1919年にインドにおいて、ヤギのマラリア原虫は1923年にアンゴラにおいてそれぞれ初めて報告されたが、これらの原虫に関する続報はほとんど無かった。本研究では、スイギュウ及びヤギを対象にマラリア原虫の調査を進め、スイギュウのマラリア原虫が東南アジアに分布し、ヤギのマラリア原虫がアジアからアフリカにかけて広く分布することが明らかとなった。さらにその分子系統解析から、偶蹄類マラリア原虫が既知の哺乳類、鳥類、爬虫類マラリア原虫以前に分岐することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、スイギュウのマラリア並びにヤギのマラリアが広く東南アジアを含む地域で蔓延していることが明らかとなった。スイギュウ、ヤギは使役動物や乳・肉の生産を通じて現地の農畜産業を支える重要な家畜であるため、今後詳細な病原解析と偶蹄類家畜のマラリアに対する対策の構築が必要である。

研究成果の概要(英文)：Malaria parasites of even-toed ungulate have been sparsely described after its discovery. Plasmodium bubalis was reported from water buffalo in India in 1919, and P. caprae was reported from goat in Angola in 1923, however these studies were based on microscopic description and no further epidemiological or phylogenetical studies have been conducted. We performed PCR surveys using blood from ungulates and we found that Plasmodium is readily detectable from water buffaloes in Thailand and Vietnam. Plasmodium DNA was also detected from goats in Zambia, Sudan and Kenya in Africa, Iran in west Asia, and Myanmar and Thailand in southeast Asia. Complete mitochondrial DNA sequences were determined and used to infer a phylogeny in which ungulate malaria parasites form a monophyletic clade within the Haemosporida, and branch prior to the clade containing bird, lizard and other mammalian Plasmodium.

研究分野：獣医学

キーワード：マラリア スイギュウ ヤギ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マラリアはヒトでは年間 40 万人以上の死者を出す重篤な感染症であるが、ウシ科動物のマラリアは 20 世紀半ばにいくつかの報告がされて以降、ほとんど報告がない。研究代表者らはタイでスイギュウを対象に血液から遺伝子診断を行ったところ、約半数にマラリア原虫を認めた。1919 年の論文によると、インドで実験的に牛疫ウイルスを感染させたスイギュウの血液からのみマラリア原虫が検出されているため、免疫の低下したスイギュウで発症する可能性があるが、その実態は全く明らかでない。流行域も我々の予備研究により、インド以外にタイにおいても流行していることが初めて明らかになったばかりである。

2. 研究の目的

本研究ではタイを中心にウシ科動物におけるマラリア原虫の感染状況とその病原性を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

タイを含む世界各国のウシ科動物より、血液塗抹標本の顕微鏡観察並びに血液 DNA を用いた nested-PCR 法によるマラリア原虫の検出を試みた。原虫が検出された場合は、宿主の貧血、年齢、性別等といった情報とマラリア原虫感染の有無について解析を行った。また、多くの原虫陽性検体では原虫感染率が低かったため、定量的 PCR 法による原虫量の推定を行った。さらに偶蹄類マラリア原虫のミトコンドリアゲノム配列を決定し、分子系統解析を行った。

4. 研究成果

東南アジアのスイギュウ、アジアからアフリカにかけて分布するヤギ、さらに南米のシカよりマラリア原虫が検出された。

スイギュウのマラリア原虫：タイにおいてはムクダハーン県のほか、チャチューンサオ県のスイギュウからマラリア原虫が検出され、そのほか、ベトナムのスイギュウからも原虫 DNA が検出された。その事により東南アジア一帯にスイギュウのマラリアが蔓延していることが明らかとなった[論文 3]。PCR 産物のシークエンス解析から、塩基配列には 2 種類あったため、*P. bubalis* と報告されている原虫は 2 つのグループに分かれることが明らかとなった。血液薄層塗抹標本から原虫が容易には観察されなかったため、定量 PCR により原虫数を推定した結果、最も DNA コピー数が高い検体（原虫赤血球寄生率は 100 原虫/ μ L と推定）の血液薄層塗抹標本を慎重に観察したところ、過去に記載された特徴的な棒状のヘモソインを含む原虫寄生赤血球を見出すことに成功した。赤血球寄生率は約 0.003% であった。スイギュウマラリア原虫 DNA について全ミトコンドリアゲノム塩基配列を決定し、分子系統解析を行った。マラリア原虫は鳥類・爬虫類のマラリア原虫を含む系統と霊長類・げっ歯類・コウモリを含む哺乳類のマラリア原虫の系統に分岐するが、スイギュウのマラリア原虫は、鳥類・爬虫類・哺乳類に感染するの既知の全マラリア原虫よりも上位で分岐しているという結果が得られた。

ヤギのマラリア原虫：スイギュウマラリア原虫の研究の一環でザンビアのヤギ血液 DNA を調査したところ、1 検体からマラリア陽性例を認めた[論文 3]。また、全ミトコンドリアゲノム塩基配列を他の偶蹄類寄生性マラリア原虫の配列と比較した結果、スイギュウマラリア原虫と単系統を形成することを明らかにした。ヤギは紀元前 1 万年頃に西アジアで家畜化され、世界に広まったと考えられるため、ヤギマラリア原虫もアフリカのみならず他の地域にも分布しているのではないかと考え、アジア及びアフリカで飼育されているヤギからマラリア原虫の検出を試みた。タイ、イラン、ケニアにおいては新規にヤギ血液を採取したほか、共同研究者のもとで保管されていたミャンマー、スーダンのヤギ血液 DNA 試料を併せ、計 1,299 検体を対象とした。その結果、全ての地域から PCR 陽性検体が得られ(3-40%)、*P. caprae* がアジア・アフリカの広範囲に分布していることが初めて明らかとなった[論文 2]。また、調査では貧血を示しているヤギが多くいたが、貧血、年齢、性差とマラリア感染の間に有意な差は見られなかった。

シカのマラリア原虫：ブラジルのシカ 3 種よりマラリア原虫 DNA の検出を試みたところ、パンパスジカの 3 検体から原虫 DNA が検出され、南米における偶蹄類マラリアの存在が初めて明らかとなった[論文 1]。ミトコンドリアゲノム配列を決定し、分子系統解析を行ったところ、

北米のオジロジカのマラリア原虫 *P. odocoilei* に近縁の原虫であることが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

[1] Asada M, Takeda M, Tomas WM, Pellegrin A, de Oliveirad CHS, Barbosae JD, da Silveira JAG, Braga EM, Kaneko O. Close relationship of *Plasmodium* sequences detected from South American pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) to *Plasmodium* spp. in North American white-tailed deer. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 7:44-47 2018. 査読有 doi: 10.1016/j.ijppaw.2018.01.001.

[2] Kaewthamasorn M, Takeda M, Saiwichai T, Gitaka JN, Tiawsirisup S, Imasato Y, Mossaad E, Sarani A, Kaewlamun W, Channumsin M, Chaiworakul S, Katepongpun W, Teeveerapunya S, Panthong J, Mureithi DK, Bawm S, Htun LL, Win MM, Ismail AA, Ibrahim AM, Suganuma K, Hakimi H, Nakao R, Katakura K, Asada M, Kaneko O. Genetic homogeneity of goat malaria parasites in Asia and Africa suggests their expansion with domestic goat host. Sci Rep. 8(1):5827. 2018 査読有 doi: 10.1038/s41598-018-24048-0.

[3] Templeton TJ, Asada M, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthamasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. Sci Rep. 6:23230. 2016 査読有 doi: 10.1038/srep23230.

〔学会発表〕(計15件)

[1] 麻田 正仁, 竹田 美香, Tomas WM, Pellegrin A, Oliveira CHS, Barbosa JD, Silveira JAG, Braga EM, 金子 修. 南米のパンパスジカ寄生マラリア原虫は北米のオジロジカ寄生マラリア原虫に近縁である. 第88回日本寄生虫学会大会 2019年3月

[2] Kaewthamasorn M, Takeda M, Saiwichai T, Gitaka J, Tiawsirisup S, Imasato Y, Mossaad E, Sarani A, Kaewlamun W, Channumsin M, Chaiworakul S, Katepongpun W, Teeveerapunya S, Panthong J, Mureithi D, Bawm S, Htun LL, Win MM, Ismail AA, Ibrahim MA, Suganuma K, Hakimi H, Nakao R, Katakura K, Asada M, Kaneko O. Genetic homogeneity of goat malaria parasites in Asia and Africa suggests their expansion with domestic goat host. 第59回日本熱帯医学会大会 2018年11月

[3] 麻田 正仁, 竹田 美香, Tomas WM, Pellegrin A, Oliveira CHS, Barbosa JD, Silveira JAG, Braga EM, 金子 修. 南米のパンパスジカ寄生マラリア原虫は北米のオジロジカ寄生マラリア原虫に近縁である. 第161回日本獣医学会学術集会 2018年9月

[4] Kaewthamasorn M, Takeda M, Saiwichai T, Gitaka J, Tiawsirisup S, Imasato Y, Mossaad E, Sarani A, Kaewlamun W, Channumsin M, Chaiworakul S, Katepongpun W, Teeveerapunya S, Panthong J, Mureithi D, Bawm S, Htun LL, Win MM, Ismail AA, Ibrahim MA, Suganuma K, Hakimi H, Nakao R, Katakura K, Asada M, Kaneko O. Genetic homogeneity of goat malaria parasites in Asia and Africa suggests their expansion with domestic goat host. The 17th Awaji International Forum on Infection and Immunity 2018年9月

[5] Takeda M, Asada M, Tomas WM, Pellegrin A, de Oliveira CHS, Barbosa JD, da Silveira JAG, Braga EM, Kaneko O. Close relationship of *Plasmodium* sequences detected from South American pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) to *Plasmodium* spp. in North American white-tailed deer. The 17th Awaji International Forum on Infection and Immunity 2018年9月

[6] Kaewthamasorn M, Takeda M, Saiwichai T, Gitaka J, Tiawsirisup S, Imasato Y, Mossaad E, Sarani A, Kaewlamun W, Channumsin M, Chaiworakul S, Katepongpun W, Teeveerapunya S, Panthong J, Mureithi D, Bawm S, Htun LL, Win MM, Ismail AA, Ibrahim MA, Suganuma K, Hakimi H, Nakao R, Katakura K, Asada M, Kaneko O. Genetic homogeneity of goat malaria parasites in Asia and Africa suggests their expansion with domestic goat host. 14th International Congress of Parasitology 2018年8月

[7] Kaewthasorn M, 竹田 美香, Saiwichai T, Gitaka JN, Tiawsirisup S, 今里 裕平, Mossaad E, Sarani A, Kaewlamun W, Channumsin M, Chaiworakul S, Katepongpun W, Teeveerapunya S, Panthong J, Mureithi DK, Bawm S, Htun LL, Win MM, Ismail AA, Ibrahim AM, 菅沼 啓輔, Hakimi H, 中尾 亮, 片倉 賢, 麻田 正仁, 金子 修. アジア及びアフリカのヤギマラリア原虫はヤギの分布域拡大に併せて広まった. 第 87 回日本寄生虫学会大会 2018 年 3 月

[8] 麻田 正仁, 金子 修. 偶蹄類のマラリア原虫. 第 32 回生態学・疫学談話会 2018 年 3 月

[9] 麻田 正仁, Kaewthasorn M, 竹田 美香, Tiawsirisup S, Saiwichai T, Kaewlamun W, 金子 修. タイのヤギマラリア原虫. 第 160 回日本獣医学会学術集会 2017 年 9 月

[10] Asada M, Templeton TJ, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. The 13th Nagasaki-Singapore Medical Symposium / Leading Program International Symposium 2017 2017 年 5 月

[11] Asada M, Templeton TJ, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. 第 86 回日本寄生虫学会大会 2017 年 5 月

[12] Asada M, Templeton TJ, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. Japan-Brazil Malaria Workshop 2017 年 3 月

[13] 麻田 正仁, Kaewthasorn M, 竹田 美香, 外川 裕人, Templeton TJ, 金子 修. Loop-Mediated Isothermal Amplification によるスイギュウマラリア原虫検出法の確立. 第 159 回日本獣医学会学術集会 2016 年 9 月

[14] Templeton TJ, Asada M, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. The 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity 2016 年 9 月

[15] Templeton TJ, Asada M, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. 第 5 回感染症若手フォーラム 2016 年 9 月

〔その他〕(計 2 件)

[1] 麻田 正仁. タイにおける偶蹄類マラリア原虫調査. 日本獣医寄生虫学会誌 17 巻 59-64 頁 2019 年

[2] 麻田 正仁, 金子 修. 偶蹄類のマラリア原虫. 生態学・疫学談話会ニュース 32 号 7-11 頁 2019 年

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 金子 修

ローマ字氏名: KANEKO, Osamu

所属研究機関名: 長崎大学

部局名: 熱帯医学研究所

職名: 教授

研究者番号(8桁): 50325370

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: カエタマソーン モラコット

ローマ字氏名：KAEWTHAMASORN, Morakot
研究協力者氏名：テンブルトン トーマス
ローマ字氏名：TEMPLETON, Thomas
研究協力者氏名：ハキミ ハッサン
ローマ字氏名：HAKIMI, Hassan
研究協力者氏名：竹田 美香
ローマ字氏名：TAKEDA, Mika

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。