

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19406013
 研究課題名（和文）：アジア諸国を起源として分布する薬剤耐性マラリアの遺伝疫学研究
 研究課題名（英文）：Genetic epidemiological research on drug resistant malaria which has originated and been spreading in Asian countries.
 研究代表者：
 狩野 繁之（KANO SHIGEYUKI）
 国立国際医療センター・研究所・部長
 研究者番号：60233912

研究成果の概要（和文）：熱帯熱マラリア原虫の集団遺伝学解析では、フィリピンの流行度と遺伝的多様度の間に正の相関が観察された。ベトナムのクロロキン耐性株の起源は、タイ-ミャンマー国境付近の同耐性株の拡散によらず、ベトナム原虫集団からの耐性変異株の発生と推察された。三日熱マラリア原虫のmtDNA配列による分子系統解析では、韓国の原虫集団の起源は中国南部の2つの原虫集団にあった。集団遺伝学的解析は、マラリア疫学の有用なツールである。

研究成果の概要（英文）：In the malaria endemic Philippines, the level of genetic diversity of *Plasmodium falciparum* correlates with the local malaria endemicity. The Thai *P.f.* populations had been under strong chloroquine selective pressure but the Vietnamese population had not, and that the origin of chloroquine resistance in Vietnam might be different from Thailand. The genealogical origin of *P. vivax* populations in South Korea was from the two different populations in southern China. These findings confirm that population genetic analyses are a useful tool for epidemiology of malaria.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,103,578	1,830,000	7,933,578
2008年度	3,802,118	1,140,000	4,942,118
2009年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
年度			
総計	13,105,696	3,930,000	17,035,696

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・寄生虫学（含衛生動物学）

キーワード：遺伝学、感染症、ゲノム、疫学、マラリア

1. 研究開始当初の背景

(1) 薬剤耐性マラリアの世界的拡散

1957年、タイにおいて世界で初めてクロロキン耐性熱帯熱マラリアが報告されたのを皮切りに、周辺アジア諸国で次々と同耐性マラリアの報告が続いた。さらには、ピリメサミン・スルファドキシシン合剤に対する耐性の報告、そしてメフロキンに対する耐性の報告も後を絶たず、メコン川流域の大陸部アジアは、多剤耐性マラリアがもっとも猖獗する地域と認識されるに至った。

研究開始当初において最も急がれたことは、

1) 疫学的研究として、薬剤耐性マラリアの流行状況を正確に把握し、その拡散メカニズムを明らかにし、その猖獗をコントロールする手法を開発すること、そして、2) 臨床的研究としては、原虫が薬剤耐性を獲得するメカニズムを分子のレベルで解明し、その成果をもって新規抗マラリア薬を開発し、さらには患者の臨床管理方法を向上させることであった。当該研究では、海外学術調査に立脚して、前者1)の疫学的研究において成果をあげ、対策に向けた新たなブレイクスルーを求めようと試みた。

(2) 研究代表者らの研究開始当初までの研究成果を踏まえ、当該研究の着想に至った経緯・背景

薬剤耐性マラリアの分布は、治療失敗例による臨床経過報告に立脚するものが殆どであり、原虫が獲得している薬剤耐性の形質を直接的に証明しながら、その疫学を展開する調査研究は皆無に等しかった。そこで我々は、**基盤研究(B)海外学術調査「アジア諸国に蔓延する薬剤耐性マラリアのエビデンスに基づいた疫学研究(研究代表者:狩野繁之)」(平成13~15年度)**を展開し、薬剤耐性マラリアのアジア諸国における蔓延状況を、熱帯熱マラリア原虫を培養して行う *in vitro* 薬剤感受性試験での50%増殖阻害濃度を指標(Phenotype)として評価した。その成果として、ミンダナオ島におけるクロロキンによる治療失敗例を同指標のエビデンスを示して例証することができ(Hatabu et al: Southeast Asian J Trop Med Pub Health, 2003)、タイ・ミャンマー国境の世界最大の薬剤耐性マラリア流行地でも同試験を行い、クロロキンに対して100%耐性、メフロキン 50%耐性という数値を示せた(Hatabu et al: Trop Med Health, 2004)。さらにラオスの流行地では、第一選択薬であるクロロキンに対する薬剤耐性の問題は深刻でないことを報告した(Hatabu et al: Trop Med Health 33: 103-104, 2005)。

これらの成果は、今まで不明であった原虫の *in vitro* 薬剤感受性のアジアにおける分布を提示し、流行地での薬剤選択ポリシーに言及することができる極めて重要なエビデンスを提供したものと考えられた。そこで、さらにそれぞれ大陸部と島嶼部アジアでの薬剤耐性原虫株の遺伝型の相違を、*pfprt* 薬剤耐性遺伝子の変異を指標(Genotype)としてゲノム疫学的に検証することを目的とした**基盤研究(B)海外学術調査「アジア諸国に拡散する薬剤耐性マラリアのゲノム疫学研究(研究代表者:狩野繁之)(平成16~18年度)**を展開し、マラリア原虫の種々薬剤耐性関連遺伝子の多型性の検出と(Tongol-Rivera P et al: Acta Medica Philippina, 2005)、そのアジアでの分布を詳細に解析し(Hatabu et al: Southeast Asian J Trop Med Pub Health, 2005)、それらの流行拡散動向を報告した(Hatabu & Kano: Antimicrob Agent Chemother. 2006)。これらの成果は、我々が仮説を立てていたところの「大陸部と島嶼部アジアで薬剤耐性株の遺伝型に差があるであろう」ことを例証するものであった。ところが、以上2研究課題による薬剤耐性の表現型(PhenotypeとGenotype)では、薬剤耐性株の分布状況は判っても、伝播と遺伝学的な変容のメカニズムを時間的にとらえることが困難であることが判明してきた。

2. 研究の目的

当該研究では、海外学術調査に立脚して、薬剤耐性マラリアの流行状況を正確に把握し、その拡散メカニズムを明らかにし、その猖獗をコントロールする手法の開発に寄与する疫学的研究で成果をあげ、対策に向けた新たなブレイクスルーを求めることを目的とした。

具体的には、東南アジア諸国における熱帯熱マラリア原虫集団(タイ、ベトナム、カンボジア、フィリピンの野外株)および三日熱マラリア原虫集団(韓国、タイ、フィリピンの野生株)のマイクロサテライトDNA多型に基づき、1)原虫集団の遺伝的多様性を明らかにする。2)同多様性の集団間での均一性を解析し、遺伝的な分化度を算出する。3)そして同地域に分布する原虫集団の系統解析を行うことで、薬剤耐性マラリア原虫の拡散様式を時間的・空間的に推定する。これらの成果をもって、流行制圧への提言を目指す。

また、韓国の三日熱マラリア原虫集団を用いて、そのミトコンドリアDNAを用いた分子系統解析で、ハプロタイプネットワーク法による三日熱マラリア原虫の起源の推定を諮ることも目的とした。

3. 研究の方法

(1) フィリピン流行地の熱帯熱マラリア原虫集団間の遺伝疫学解析

1)材料として、フィリピンの流行地3島(ルソン島:22株、パラワン島:40株、ミンダナオ島:30株)から、フィルターペーパーで熱帯熱マラリア患者血液を採取し、それぞれのクロロキンに対する薬剤耐性マーカー遺伝子(*pfprt*)の変異の解析を行った。

2)マイクロサテライトDNAの10座位(Anderson TJ et al, Parasitology, 2000; Machado RL et al: J Inf Dis, 2004; Razakandrainibe FG et al, Proc Natl Acad Sci U S A, 2005)を用いて、次のa)~e)の遺伝的構造の指標を解析した。

a)熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様性(Genetic Diversity)の算出:この指標は生物集団の遺伝的多様性を評価するのに用いられ、解析項目としては、「対立遺伝子(Allele)数」、「対立遺伝子長の分散」、「ヘテロ接合体率」、「集団の有効な大きさ」を求めた。

b)遺伝的な分化度(Genetic Differentiation)の算出:この指標としては、「Fst値」(Weir BS & Cockerham CC, Evolution, 1984)があり、遺伝的多様性が集団間で均一なものか、あるいは特定の集団で分化が起こっているかどうかを評価するのに用いられる。たとえば、比較する2集団の分化度が高い場合、その2集団間での遺伝的交流がない(あるいは少ない)ことを意味する。

c)連鎖不平衡(Linkage disequilibrium)の解析:ランダムな交配からのずれを調べる指標

であり、調べた複数の遺伝的マーカーに連鎖不平衡が認められた場合には、任意交配が行われていない可能性が推定される。例えばある集団で強い連鎖不平衡が認められた場合、その集団は他集団との交流が少なく、同一集団内の限られた個体同士で自家交配を行っていることが予想される (Haubold B & Hudson RR, Bioinformatics, 2000)。

d) 集団間の遺伝的距離の算出並びに遺伝的距離に基づく系統解析: Nei の遺伝的距離 (Nei の標準遺伝距離、Nei の Da 遺伝距離) 並びに近隣結合法 (Nei M & Kumar S, Oxford press, 2000) による。これは、集団同士の遺伝的距離を推定する一般的な方法で、アレル頻度を計算に用いる。特に Da 遺伝距離はマイクロサテライト DNA 多型データを用いた系統解析に有効であることが判っている。

e) 個体間の遺伝的距離の算出並びに遺伝的距離に基づく系統解析: Bowcock らの手法 (Bowcock AM et al, Nature, 1994) による。これは個体間の遺伝的距離を推定する方法で、d) の集団としての解析で失われる各個体の情報を系統樹に反映することができる。

3) 解析結果 (a~c) を、(i) 現地マラリアの流行度 (患者発生率やスライド陽性率などを指標)、(ii) 薬剤耐性マラリアの分布 (*in vivo* におけるマラリア治療成果、*in vitro* のデータ)、(iii) 耐性遺伝子 (*pfert* など) の多様性とその分布と比較し、それぞれフィリピン 3 流行地域の原虫集団の遺伝的特徴を記載した。なお、(i) はフィールド調査による資料収集、(ii) はフィールドからの情報および我々の研究室における培養データ、(iii) は、同じ検体からの原虫 DNA 解析結果で得ることができた。

4) 解析結果 (d, e) により、地域原虫集団の分子系統樹ができるので、その分岐パターンと樹長をあわせて、当該 3 島の原虫集団の拡散様式が時間的・空間的に把握できた。

なお、上記フィリピン原虫集団の有効なサンプル数の確保および現地資料等の収集は、フィリピン大学公衆衛生学部寄生虫学教室教授 (Pilarita T. Rivera) とともに行った。

(2) タイ流行地の熱帯熱マラリア原虫クロロキン耐性株の遺伝疫学解析

1) 材料: マヒドン大学熱帯医学部病院に集まる熱帯熱患者検体、およびマヒドン大学のフィールドステーション (ミャンマー国境カンチャナブリ州) で収集した 50 検体を用いた。

2) 耐性関連遺伝子とその近傍のマイクロサテライト DNA の解析: クロロキン耐性の関連遺伝子である *pfert* 遺伝子のコドン 76 番目付近の DNA 塩基配列の決定、並びにその近傍のマイクロサテライト DNA 6 座位 (B5M77, 2E10, 9B12, PE12A, 2H4, PE14F) の多型解析を行った。

3) 熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様性の算出: この指標は生物集団の遺伝的多様性を評価するのに用いられ、解析項目としては、「対立遺伝子 (allele) 数」、「ヘテロ接合体率」を求めた。

(3) ベトナム流行地の熱帯熱マラリア原虫集団間の遺伝疫学解析

1) 材料: 本フィールドはベトナム南部のラオス国境に近いビン・フック州で、熱帯熱マラリア原虫サンプルに関しては、長崎大学熱帯医学研究所 (中澤秀介助教) のフィールドワークによる濾紙検体が、39 検体既に手元にあつたので、同助教と連携して行った。

2) マイクロサテライト解析は上記 (2) と同じ。本地域におけるマラリア原虫の遺伝的多様性の解析は、当該研究の中心的ターゲットとなるタイにおける原虫の多様性と比較することで、究めて貴重なデータを提示できたと考えている。

(4) カンボジア流行地の熱帯熱マラリア原虫集団間の遺伝疫学解析

1) 材料: カンボジア寄生虫学・昆虫学・マラリア対策研究センターと連携して、同部局が管理する流行地病院からの熱帯熱マラリア患者血液検体 30 検体を濾紙採血法で入手した。

2) マイクロサテライト解析は上記 (2) と同じ。本地域におけるマラリア原虫の遺伝的多様性の解析は、当該研究の対照地域となるタイと上記ベトナムとの地理的に中間地点に位置する原虫集団の遺伝解析として、究めて貴重なデータを提示できた。

(5) 三日熱マラリア原虫の遺伝的多様度と遺伝的集団構造の特徴の解析

1) 材料: 韓国の非武装地帯 (韓国と北朝鮮との国境付近) に従軍した韓国軍兵士から、1994 年から 2007 年にかけて採取された三日熱マラリア原虫 255 検体を解析に用いた。

フィリピンからは、上記熱帯熱マラリア原虫の採取時に同時に訪れた三日熱マラリア患者から、濾紙採決を行った。

タイからは、マヒドン大学熱帯医学病院の三日熱マラリア患者 (ミャンマー国境地域住民) の全血を分与された。

2) マイクロサテライト解析は、三日熱マラリア原虫のマイクロサテライト DNA 14 座位 (Mol Ecol Notes, 2007;7:172-175) を用いた。同原虫の集団遺伝学的な特徴を評価するために用いる各種遺伝学的指標は、各遺伝子座の対立遺伝子の数、ヘテロ接合体の期待値 (遺伝的多様度)、多遺伝子座の連鎖平衡、遺伝的ビン首効果の有無、各年の集団間の遺伝的分化度についてである。

さらに一人の患者に感染している異なる原虫クローンの数も調べた。上記の遺伝学的指

標は、熱帯熱マラリア原虫の集団遺伝学的特長を評価する際に広く用いられており、その結果、熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様度と流行度との相関が示唆されている。

(6) 三日熱マラリア原虫のミトコンドリア DNA を用いた分子系統解析

ハプロタイプネットワーク法による韓国の三日熱マラリア原虫の起源の推定を目的とした。方法としては、三日熱マラリア原虫のミトコンドリアゲノムの全塩基配列 (6Kb) を用いて、ネットワーク法により系統解析を行った。解析には韓国株 11 検体を含む患者分離株 (計 21 検体) と、データベースに登録されている世界中の株 (約 280 検体) を用いた。

4. 研究成果

(1) フィリピン熱帯熱マラリア原虫集団間の遺伝疫学解析

遺伝的多様度の指標となる expected heterozygosity の値は、ルソン島集団 0.39、パワラン集団 0.60、ミンダナオ集団 0.51 であった。次に集団の有効な大きさ (effective population size) を stepwise mutation model (SMM) を用いて計算した結果、ルソン島集団 1313、パワラン集団 4202、ミンダナオ集団 2515 であった。次に遺伝的びん首効果の有無を SMM を用いて調べた結果、3 集団ともびん首効果を受けていないことが明らかとなった。また連鎖不平衡の有無を調べたところ、3 集団ともランダムな交配から有意に離れていること、並びにルソン島集団とパラワン集団が epidemic population structure (ある特定のクローンが集団内で急激に増えた状態) であることが示唆された。

上記の結果より、マラリアの流行度と遺伝的多様度との間に正の相関が観察された。また異なるクローンが混合感染している頻度 (ルソン島 0.0%、パラワン 10.7%、ミンダナオ 6.7%) と遺伝的多様度との間に正の相関が観察され、混合感染の頻度と連鎖不平衡の程度に負の相関が観察された。マラリアの分子集団遺伝学的解析は、マラリアの流行状況をより詳しく理解する有用なツールであると考えられた。

(2) アジアの薬剤耐性熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝疫学解析

1) *pfert* 解析: タイの 50 株は、全て *pfert* 遺伝子がクロロキン耐性型 (CVIET) であった。一方、ベトナムの 39 株中 27 株 (69%) はクロロキン感受性型 (CVMNK) で、10 株 (26%) がクロロキン耐性型 (CVIET, CVIDT, CVMDT) だった。残り 2 株 (5%) はクロロキン感受性型とクロロキン耐性型の混合感染 (CVMNK/CVIDT) であった。この結果から、ベトナムのクロロキン選択圧は他の地域と比べ低い可能性が示唆された。

2) マイクロサテライト DNA 多型から見た遺伝

的多様性: 遺伝的多様性の指標となるヘテロ接合体率の期待値 (eH) を、観察されたマイクロサテライト DNA の allele 頻度を用いて遺伝子座ごとに計算した。 eH は 0~1 までの値を取り、0 に近いほど遺伝的多様度が小さく、1 に近づくほど多様度が大きいことを表す。タイの原虫集団の eH は、B5M77 $eH=0.21$ 、2E10 $eH=0.61$ 、9B12 $eH=0.08$ 、PE12A $eH=0.35$ 、2H4 $eH=0.49$ 、PE14F $eH=0.82$ であった。

一方、ベトナム南部の原虫集団の eH は、クロロキン感受性形が B5M77 $eH=0.58$ 、2E10 $eH=0.97$ 、9B12 $eH=0.80$ 、PE12A $eH=0.37$ 、PE14F $eH=0.84$ で、クロロキン耐性型が B5M77 $eH=0.67$ 、2E10 $eH=0.79$ 、9B12 $eH=0.86$ 、PE12A $eH=0.73$ 、PE14F $eH=0.86$ であった。またタイとベトナムの集団では観察される allele の種類が異なる傾向が観察された。ベトナム集団の 2H4 は、PCR で増幅できなかったためデータが得られなかった。

これらの結果より、タイの熱帯熱マラリア原虫集団のマイクロサテライト DNA の多様度は、ベトナム南部のそれと比べ低い値を示した。一般的にある遺伝子の遺伝的多様度が小さい場合、その遺伝子近傍のマイクロサテライト DNA の多様度も小さくなると考えられる。今回の解析結果もこの傾向を示していると考えられた。すなわち、タイの熱帯熱マラリア原虫集団は過去に非常に強いクロロキン選択圧を受け、クロロキン選択圧がなくなった現在もなお、その影響を強く残していることが推察された。一方、ベトナム南部の熱帯熱マラリア原虫集団はタイの熱帯熱マラリア原虫集団と比べ、クロロキン選択圧が弱い可能性が示唆された。

結論として、ベトナム南部のクロロキン耐性株の起源は、タイ-ミャンマー国境付近のクロロキン耐性株の拡散によると考えるよりはむしろ、同地域に棲息していた熱帯熱マラリア原虫集団の中から耐性型の変異が生じた、あるいはタイ-ミャンマー国境付近の株とは異なるクロロキン耐性原虫が他の地域から拡散してきたことに起因すると推察される。この成果は、アジアの耐性マラリアの拡散のメカニズムの定説を崩す結果となりうる。(なお、カンボジア検体の解析は現在進行中で、同様な結果が得られつつある)

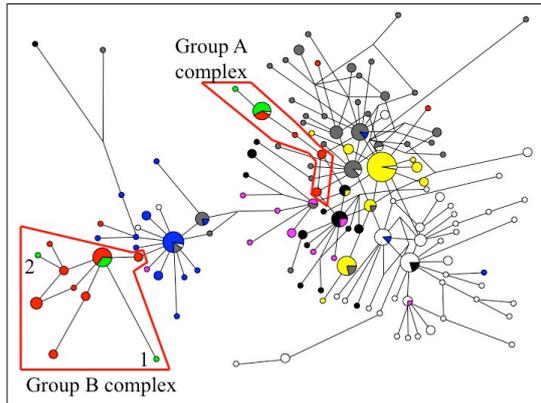
薬剤耐性マラリアの出現・拡散を防止するためには、各流行地の疫学的状況に即したコントロールを展開することが必要であると考えられた。

(3) 三日熱マラリア原虫のミトコンドリア DNA を用いた分子系統解析 (図)

韓国の三日熱マラリア原虫集団は、遺伝的に異なる 2 つの集団 (A 集団、B 集団) に分かれ、同じく 2 つに分かれた中国南部の三日熱マラリア原虫集団と、それぞれ同一クラスター

一を形成した。韓国と中国南部の A 集団は、インドシナ半島（タイ）と南アジア（インド）の三日熱マラリア原虫集団と近縁であった。

一方、B 集団は、インドネシアの三日熱マラリア原虫集団から分化した可能性が示唆された。現在韓国で流行している三日熱マラリア原虫の起源は疫学状況から北朝鮮由来であると推定されているが、本解析の結果、真の起源は中国南部の2つの三日熱マラリア原虫集団にあると推定された。本系統解析は、原虫の地理的起源を推定でき、患者の治療方針（薬剤耐性を含む）や流行拡散の把握に有用であると考えられた。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Iwagami M, Hwang SY, Fukumoto M, Hayakawa T, Tanabe K, Kim SH, Kho WG, Kano S: Geographical origin of *Plasmodium vivax* in the Republic of Korea: haplotype network analysis based on the parasite's mitochondrial genome. *Malar J*, Epub ahead of print, 2010.
- ② Iwagami M, Itoda I, Hwang SY, Kho WG, Kano S: *Plasmodium vivax* PCR genotyping of the first malaria case imported from South Korea into Japan. *J Infect Chemother* 15: 27-33, 2009.
- ③ Hatabu T, Iwagami M, Kawazu S, Taguchi N, Escueta AD, Villacorte EA, Rivera PT, Kano S: Association of molecular markers in *Plasmodium falciparum crt* and *mdr 1* with *in vitro* chloroquine resistance: A Philippine study. *Parasitol Int* 58: 166-170, 2009.
- ④ Iwagami M, Rivera PT, Villacorte EA, Escueta AD, Hatabu T, Kawazu S, Hayakawa T, Tanabe K, Kano S: Genetic diversity and population structure of *Plasmodium falciparum* in the Philippines. *Malar J* 8: 96-103, 2009.
- ⑤ 石上盛敏、福本恵、加藤康幸、竹下望、工藤宏一郎、狩野繁之: 複数のマラリア流行地を渡航した輸入三日熱マラリア患者の感染地の推定-三日熱マラリア原虫のミトコンドリアDNA塩基配列に基づく系統解析-。 *Clin Parasitol* 20: 78-80, 2009.
- ⑥ Iwagami M, Hatabu T, Kawazu S, Escueta AS, Villacorte EA, Rivera PT, Kano S: Phylogenetic relationship of *Plasmodium falciparum* populations in the Philippines. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health* 39: 200-204, 2008.
- ⑦ Saito-Nakano Y, Tanabe K, Kamei K, Iwagami M, Komaki-Yasuda K, Kawazu S, Kano S, Ohmae H, Endo T: Genetic evidence for *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine and pyrimethamine in Indochina and the Western Pacific between 1984 and 1988. *Am J Trop Med Hyg* 79: 613-619, 2008.
- ⑧ Susomboon P, Iwagami M, Tangpukdee N, Krusood S, Looareesuwan S, Kano S: Differences in genetic population structures of *Plasmodium falciparum* isolates from patients along Thai-Myanmar border with severe or uncomplicated malaria. *Malar J* 7: 212, 2008.
- ⑨ Naoshima-Ishibashi Y, Iwagami M, Kawazu S, Looareesuwan S, Kano S: Analyses of cytochrome *b* mutation in *Plasmodium falciparum* isolates in Thai-Myanmar border. *Travel Med Infect Dis* 5: 132-134, 2007.
- ⑩ Iwagami M, Taguchi N, Angluben RU, Escueta AS, Villacorte EA, Rivera PT, Kano S, Kawazu S: Evaluation of blood preservation methods in the performance of the WHO *in vitro* micro-test for *Plasmodium falciparum* in the field. *Trop Med Health*, 35: 337-341, 2007.

[学会発表] (計 19 件)

- ① Iwagami M, Fukumoto M, Kho WG, Kano S: Origin of *Plasmodium vivax* in the Republic of Korea: An approach using haplotype network analysis based on mitochondrial DNA sequences of the parasite. Joint International Tropical Medicine Meeting 2009, Centara Grand & Bangkok Convention Centre at Central World, Bangkok, 2009.12.3-4.
- ② Kano S: Genetic epidemiology of malaria in Asian and Western Pacific areas. The 51st Annual Meeting and Symposium for the 50th Anniversary of the Korean Society for Parasitology. Seoul National University Hospital, Seoul, 2009.10.29-31.
- ③ 石上盛敏、福本恵、Weon-Gyu Kho、狩野繁之: 韓国の三日熱マラリア原虫の起源、第50回日本熱帯医学会大会、沖縄コンベンションセンター、2009.10.22-23.
- ④ 石上盛敏、福本恵、加藤康幸、竹下望、工藤宏一郎、狩野繁之: 複数のマラリア流行地を渡航した輸入三日熱マラリア患者の感染地の推定: 三日熱マラリア原虫のミトコンドリアDNA塩基配列に基づく系統解析、第20回日本臨床寄生虫学会、ホテル阪急エキスポパーク、2009.6.20.
- ⑤ Iwagami M, Kho WG, Kano S: Phylogenetic analyses of mitochondrial DNA sequences of *Plasmodium vivax* and its application to clinical epidemiology of vivax malaria. 11th Conference of the International Society of Travel Medicine, Budapest, 2009.5.24-28.
- ⑥ 石上盛敏、Kho Weon-Gyu、狩野繁之: 三日熱マラリア原虫ミトコンドリアDNA塩基配列の系統解析、第78回日本寄生虫学会大会、法政大学市ヶ谷キャンパス外濠校舎、2009.3.27-28.
- ⑦ Iwagami M, Kho WG, Kano S: Phylogenetic analyses of mitochondrial DNA sequences of *Plasmodium vivax* and its application to clinical epidemiology of malaria. 43rd Annual

- U.S.-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, International Medical Center of Japan, Tokyo, 2009.1.7-8.
- ⑧ Kano S: Epidemiology of malaria and its control in Asian and West Pacific countries. Symposium on Malaria: Epidemiology and control enigma, XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria, International Convention Center Jeju, Korea, 2008.9.29.-10.3.
- ⑨ Iwagami M, Susomboon P, Itoda I, Hwang SY, Kho WG, Kano S: DNA analyses of a *Plasmodium vivax* isolates from the first imported malaria case from South Korea into Japan. XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria, International Convention Center Jeju, Korea, 2008.9.29.-10.3.
- ⑩ Iwagami M, Kano S: Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequence of *Plasmodium vivax* and its application to clinical epidemiology of malaria. Joint International Tropical Medicine Meeting 2008, Imperial Queen's Park Hotel, Bangkok, 2008.10.13-14.
- ⑪ Iwagami M, Susomboon P, Tangpukdee N, Wilairatana P, Krudsood S, Dao LD, Tuan NV, Phuc BQ, Giang ND, Nakazawa S, Looareesuwan S, Kano S: Analyses of microsatellite polymorphisms flanking the the *pfcr* gene of *Plasmodium falciparum* showed different modes of evolution of chloroquine resistance in Thailand and Vietnam. Joint International Tropical Medicine Meeting 2008, Imperial Queen's Park Hotel, Bangkok, 2008.10.13-14.
- ⑫ 石上盛敏, リバラピラリタ, ヴィラコルテエレナ, エスクエタレイラ, 畑生俊光, 河津信一郎, 早川敏之, 田邊和祐, 狩野繁之: フィリピンの熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的構造と流行度. 第49回日本熱帯医学会大会・第23回日本国際保健医療学会学術大会合同大会、国立国際医療センター、2008.10.25-26.
- ⑬ 石上盛敏, 織田聡, 山本豊, 松浦康弘, 青墳信之, 脇田久, 狩野繁之: 三日熱マラリア原虫ミトコンドリアゲノム解析の渡航医学への応用—輸入マラリア患者の感染地の推定—. 第12回日本渡航医学会学術集会、岡山国際交流センター2階国際会議場、2008.7.18-19.
- ⑭ 石上盛敏, 織田聡, 山本豊, 松浦康弘, 青墳信之, 脇田久, 狩野繁之: 原虫のミトコンドリアゲノム解析による日本人三日熱マラリア患者の感染地の推定、第77回日本寄生虫学会大会、長崎ブリックホール・長崎新聞文化ホール、2008.4.3-4.
- ⑮ Susomboon P, 石上盛敏, Looareesuwan S, 狩野繁之: Microsatellite DNA analyses revealed different population structures of *Plasmodium falciparum* from Thai patients with different severities, 第77回日本寄生虫学会大会、長崎ブリックホール・長崎新聞文化ホール、2008.4.3-4.
- ⑯ Naoshima-Ishibashi Y, Iwagami M, Mitamura T, Looareesuwan S, Kano S: 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, London, 2007.9.12.
- ⑰ Iwagami M, Hatabu T, Escueta AS, Villacorte EA, Rivera PT, Hayakawa T, Tanabe K, Mitamura T, Kano S: Population structure of *Plasmodium falciparum* in the Philippines. American Society of Tropical Medicine and Hygiene 56th Annual Meeting, Philadelphia Marriot Downtown, Philadelphia, 2007.11.4-8.
- ⑱ Susomboon P, Iwagami M, Looareesuwan S, Kano S: Population genetic structure of *Plasmodium falciparum* in the Thai-Myanmar border region---Microsatellite DNA analysis. Joint International Tropical Medicine Meeting 2007, Imperial Queen's Park Hotel, Bangkok, 2007.11.29-30.
- ⑲ Susomboon P, Iwagami M, Looareesuwan S, Dao LD, Tuan NV, Phuc BQ, Giang ND, Nakazawa S, Kano S: Microsatellite DNA polymorphisms flanking *pfcr* of *Plasmodium falciparum* suggested different modes of evolution of chloroquine resistance in Thailand and Vietnam. 第48回日本熱帯医学会、ビーコンプラザ、別府市、2007.10.12-13.

〔図書〕 (計1件)

- ① Susomboon P, Kano S: Differences in genetic population structures of *Plasmodium falciparum* isolates from patients along Thai-Myanmar border with severe or uncomplicated malaria. 東京生化学研究会助成研究報告集、平成20年度版(第23集)、財団法人東京生化学研究会、東京、p146-149, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

狩野 繁之 (KANO SHIGEYUKI)
国立国際医療センター・研究所・部長
研究者番号：60233912

(2) 研究分担者

三田村 俊秀 (MITAMURA TOSHIHIDE)
国立国際医療センター・研究所・室長
研究者番号：61099925
畑生 俊光 (HATABU TOSHIMITSU)
群馬大学・医学部・助教
研究者番号：30160128

(3) 連携研究者

石上 盛敏 (IWAGAMI MORITOSHI)
国立国際医療センター・研究所・研究員
研究者番号：20392392

(4) 研究協力者

田邊 和祐 (TANABE KAZUYUKI)
大阪大学・微生物病研究所・教授
河津 信一郎 (KAWAZU SHIN-ICHIRO)
帯広畜産大学・原虫病センター・教授
中澤 秀介 (NAKAZAWA SHUSUKE)
長崎大学・熱帯医学研究所・助教
トンゴル-リバラ ピラリタ (TONGOL-RIVERA PILARITA)
フィリピン大学・公衆衛生学部・教授
ルーアリスワン ソンチャイ (LOOAREESUWAN SORNCHAI)
タイ・マヒドン大学・熱帯医学部・教授
クルドウスドゥ スリヴィッチャ (KRUDSOOD SRIVICHA)
タイ・マヒドン大学・熱帯医学部・教授
高 元圭 (KHO WEON-GYU)
韓国・インジェ大学・医学部・教授
ソチェット ドウオン (SOCHEAT DUONG)
ラオス保健省・寄生虫学・昆虫学・マラリア対策センター・所長