

機関番号：32202

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20406023

研究課題名 (和文) アジア・アフリカのマラリア流行地における G6PD 変異の分子生物学的分析

研究課題名 (英文) Molecular analyses of G6PD variants in malaria endemic areas
in Asian and African countries

研究代表者

松岡 裕之 (MATSUOKA HIROYUKI)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：10173816

研究成果の概要 (和文)：

マラリア流行地域において、マラリアの迅速診断方法 (アクリジンオレンジ法) を導入すると同時に、グルコース 6 リン酸脱水素酵素 (glucose-6-phosphate dehydrogenase) 欠損症を迅速・簡便な方法 (WST-8 法) で検出した。ともに日本人により開発された方法で、電気や水道のない地域において、ふたつの検査法 (マラリアの診断と G6PD 活性検査) が実施できることを示した。このことで G6PD 活性正常のマラリア患者の治療に、プリマキンを使用できるようになった。プリマキンはマラリア原虫の生殖母体を刹滅するので、蚊へのマラリア伝播を断つことが出来る。また G6PD 欠損者の人口あたりの比率を国・地域・民族別に比較した。さらにその変異部位を遺伝子レベルで解明することにより、民族の起源考証に役立つ資料を提供した。

研究成果の概要 (英文)：

We visited malaria endemic areas in Asian and African countries to introduce rapid methods for malaria diagnosis and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activity test. For malaria diagnosis, acridine orange method was employed. For G6PD activity test, WST-8 method was used. These methods were done at the site of malaria endemic areas and results were informed within 30 minutes after taking blood. Patients could receive anti-malarial medicine accordingly including primaquine to eliminate gametocytes. Primaquine was not used for the patients with G6PD deficiency. WST-8 method was useful for the detection of G6PD deficiency in rural areas without electricity and was recommendable for use in malaria control programs. We found more than 700 G6PD deficient people in these activities. DNA analysis of G6PD gene was performed after receiving informed consent. Thus we read about 400 samples and found 22 molecular variants including 5 new G6PD variants.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2009年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2010年度	3,100,000	930,000	4,030,000
総計	9,400,000	2,820,000	12,220,000

研究分野：寄生虫学

科研費の分科・細目：血液内科学

キーワード：グルコース 6 リン酸脱水素酵素 先天性代謝異常症 溶血発作

マラリア プリマキン 感染蚊対策 分子疫学

1. 研究開始当初の背景

アジアにおける G6PD 変異者の調査は、タイやマレーシア、シンガポールにおいては 2000 年以降、自国の分子生物学者らにより実施されはじめている。中国およびインドさらにイラクから 2006 年以降、相次いで G6PD 変異の分子生物学的分析が報告された。ベトナム、ラオス、カンボジア、ミャンマー、インドネシアでは、まだ自前で研究が実施できるだけの人材・設備が整っていない。

アフリカ諸国の G6PD 変異とその分布状況は、ヨーロッパ・米国の研究者らにより部分的に報告されているが、申請者らがアジアにおいて実施して来た研究成果と比較すると格段に見劣りする。

2. 研究の目的

(1) アジア・アフリカのマラリア流行地における、グルコース 6-リン酸脱水酵素 (glucose 6-phosphate dehydrogenase) 欠損症を、日本人により開発された迅速・簡便な方法で検出し、その変異者の比率を国・地域・民族別に比較すること

(2) その変異部位を遺伝子レベルで解明することにより、民族の起源考証に役立つ資料を提供すること

(3) この研究を通じて G6PD 変異者の安価・簡便な方法をカウンターパート側の国に技術移転し、ひきつづき共同研究の可能性をひろげてゆくこと

3. 研究の方法

アジア・アフリカのマラリア流行地域を訪れて、1 滴の血液を採り迅速診断法によりマラリアの診断を行なった。さらにもう 1 滴の血液を採って迅速診断法により G6PD 活性の検査を行なった。マラリア陽性者にはその場で薬剤を与えて治療を開始した。G6PD 欠損者がみつかったら、生活上の注意を教育し、インフォームドコンセントを得たうえで 1ml の血液をもらい、日本へ持ち帰って G6PD 遺伝子の変異部位を検索した。

4. 研究成果

3 年間に以下の国で調査を行なった。ラオス、ミャンマー、インドネシア、パプアニューギニア、フィリピン、シエラレオネ

アジア各国での成績は、これまで調査した地域との連続性を思わせる結果が得られた。すなわちラオスはタイやカンボジアさらに中国で高頻度に見られる変異型が検出された。フィリピンからはインドネシアやベトナムで見られる変異型を数多く認めた。

シエラレオネはアジア各国とは全く異なる変異型ばかりがみられ、人種の距離を反映していた。新規の変異型をみつけ、G6PD

Sierra Leone (311G>A, 376A>G) と命名した。

また日本国内においてマラリアの根治治療に先立つ G6PD 活性の検査依頼、また溶血性貧血、新生児黄疸の原因検索のため G6PD 活性の検査依頼をしばしば受けた。そのなかで外国人を母親にもつ新生児数例に G6PD 欠損症を見いだした。また親戚に外国人のいない日本人の溶血性貧血患者から、新規の G6PD 変異型を見つけた。G6PD Mizushima (848A>G) と命名した。

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 8 件)

赤澤陽平 馬場 淳 伊藤有香子 才田 謙 平林佳奈枝 三澤由佳 石田岳史 服部幸夫 藤井寿一 川本文彦 松岡裕之: 溶血発作で発症したグルコース 6-リン酸脱水酵素異常症の早産児の 1 例 日本未熟児新生児学会雑誌 23(1): 108-112, 2011

Suga Y, Nagita A, Takesako R, Tanaka I, Kobayashi K, Hirai M, Matsuoka H. A new glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency variant, G6PD Mizushima, showing increases in serum ferritin and cytosol leucine aminopeptidase levels. J Pediatr Hematol Oncol 33(1): 15-17, 2011

Tantular IS, Matsuoka H, Kasahara Y, Pusrarwati S, Kanbe T, Tuda JSB, Kido Y, Dachlan YP, Kawamoto F. Incidence and mutation analysis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in eastern Indonesian populations. Acta Med Okayama 64(6): 367-373, 2010

Wang J, Matsuoka H, Hirai M, Mu L, Yang L, Luo E. The first case of a class I glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, G6PD Santiago de Cuba (1339 G>A), from Chinese population as found in a survey for G6PD deficiency in northeastern and central China. Acta Med Okayama 64(1): 49-54, 2010

Hung NM, Matsuoka H, Eto H, Mita T, Tinh TT, Dao LM, Trung PH, Phuong VN, Marma, ASP, Kobayakawa T. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in three minority ethnic groups in central and northern Vietnam. Trop Med Health 37(1): 17-20, 2009

Slesak G, Douangdala P, Inthalad S, Silisouk J, Vongsouvath M, Senguangphachanh A, Moore CE, Mayxay M, Matsuoka H, Newton PN. Fatal *Chromobacterium violaceum*

septicaemia in northern Laos, a modified oxidase test and post-mortem forensic family G6PD analysis. *Annals Clin Microbiol Antimicrobials* 8: 24, 2009

Jalloh A, Jalloh M, Gamanga I, Baion D, Sahr F, Gbakima A, Willoughby VR, Matsuoka H. G6PD deficiency assessment in Freetown, Sierra Leone, reveals further insight into the molecular heterogeneity of G6PD A-. *J Hum Genet* 53(7): 675-679, 2008

Wang J, Luo E, Hirai M, Arai M, Abdul-Manan EAS, Mohamed-Isa Z, Hidayah NI, Matsuoka H. Nine different glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in a Malaysian population with Malay, Chinese, Indian and Orang Asli (Aboriginal Malaysian) backgrounds. *Acta Med Okayama* 62(5): 327-332, 2008

[学会発表] (計 5 件)

Matsuoka H, Kawamoto F: Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activity test prior to the treatment of vivax malaria and ovale malaria. 第 51 回日本熱帯医学会大会 2010 年 12 月 3-4 日 (仙台市) (抄録集 p63)

松岡裕之: 三日熱マラリアおよび卵型マラリアの根治療法に先立つ G6PD 活性測定の意義 第 70 回日本寄生虫学会東日本支部会 2010 年 10 月 2 日 (栃木県壬生町) (抄録集 p17)

松岡裕之, 平井誠, Amadu Jalloh: アジア・アフリカにおける G6PD 変異症および日本国内における G6PD 変異症の状況について 第 7 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム 2008 年 10 月 10-11 日 松山市 (抄録集 p20)

Matsuoka H, Jalloh A, Hirai M, Kawamoto F: Introduction of rapid methods for malaria diagnosis and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity test in malaria endemic areas in Asian and African countries. XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria. Sep 29-Oct 3, 2008 Korea (Abstract p422)

Kawamoto F, Tantular IS, Kasahara Y, Matsuoka H, Kanbe T: Field surveys for malaria and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in eastern Indonesia 第 77 回日本寄生虫学会大会 2008 年 4 月 3-4 日 長崎市 (抄録集 p72)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.jichi.ac.jp/idoubutsu/MedZool-home.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松岡 裕之 (MATSUOKA HIROYUKI)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号: 10173816

(2) 研究分担者

平井 誠 (HIRAI MAKOTO)

群馬大学・医学部・講師

研究者番号: 50326849

(3) 連携研究者

川本文彦 (KAWAMOTO FUMIHIKO)

大分大学・医学部・教授

研究者番号: 40115556

松田 肇 (MATSUDA HAJIME)

獨協医科大学・医学部・名誉教授

研究者番号: 30114648