

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 10 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：2014～2016

課題番号：26305012

研究課題名(和文)ピレスロイドの空間忌避効果を利用した新しい手法によるマラリア防除試験

研究課題名(英文)Field trial for malaria control by the new control measure using spatial repellency of pyrethroid

研究代表者

川田 均 (KAWADA, Hitoshi)

長崎大学・熱帯医学研究所・准教授

研究者番号：80363480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 6,300,000円

研究成果の概要(和文)：常温揮散性ピレスロイドであるメトフルトリンを用いた製剤(吊り下げ式ストリップ)の空間忌避効果が、マラリアの発生にどの程度の阻止効果を発揮するかをマラウイ共和国の大規模なフィールド条件下(家屋750軒)で確認したところ、媒介蚊の捕獲数はメトフルトリン製剤2回処理区(長期残効型蚊帳「オリセット・プラス」との併用)において、雨期の期間中(約5ヶ月間)有意に他の区よりも低下することが分かった。また、住民(10歳以下)の熱帯熱マラリア陽性率は、オリセットプラスのみの区においては処理前に比べ変化が見られなかったのに対し、メトフルトリン製剤処理区では、低下が見られた(陽性率50%→35%)。

研究成果の概要(英文)：The spatial repellent effect of Metofluthrin strips, the new device using the pyrethroid with high volatility at normal temperature, was evaluated in the large scale field (750 houses) in Malawi. Significant reduction of malaria vector density was observed throughout 5 month during rainy season by the combinational intervention of metofluthrin strips and the long lasting insecticidal nets (Olyset Plus). Additionally, the reduction of malaria (*Plasmodium falciparum*) positive rate was observed in the people (< 10 years old) in metofluthrin strip intervention area (50% to 35%).

研究分野：病害動物学

キーワード：ピレスロイド 抵抗性 マラリア 蚊帳 空間忌避 ハマダラカ

1. 研究開始当初の背景

長期残効性を有する殺虫剤の屋内残留散布による殺虫剤抵抗性の発達によって、当初のマラリア根絶計画は、防除から人々の苦痛の低減へと徐々にその目標を修正することを余儀なくされている。近年の数々の新規ピレスロイド殺虫剤の開発や、これらを応用するための殺虫剤技術の進歩は、長期残効型の殺虫剤含浸蚊帳 (Long Lasting Insecticidal Net, LLIN) を現在のマラリア防除技術の主流に発展させてきた。しかしながら、長期残効性や高い殺虫性能は、対象とする害虫に対して高い選択圧を与え、既にアフリカ諸国においては LLIN の普及に伴うマラリア媒介蚊のピレスロイド抵抗性が深刻化している。人畜に対する安全性が高く、害虫に対する効力も高いピレスロイド剤は、現在考え得る殺虫剤の中にあつては最も理想的な武器であり、現在のみならず数十年先の将来にわたつてもこれに代わる理想的な化学物質は出現しそうでない。ピレスロイド抵抗性は、疾病媒介蚊防除にとって近い将来最も憂慮すべき問題となると思われる。さらに、疾病媒介蚊の吸血習性がもともと夜間ではない場合、あるいは夜間吸血性ではあつても屋外を好む場合、LLIN の効果は期待できなくなる。これに加えて、アフリカのマラリア媒介蚊が、LLIN 内で人々が休む時間外に吸血時間帯をシフトさせているという驚くべき事実が最近明らかになっている。

一方、第一世代ピレスロイドと一般に総称されるグループのピレスロイド剤は、第二世代ピレスロイドと称される長期残効性タイプのピレスロイドに比べ、環境中での分解性の高さと害虫に対する選択圧の低さ (疾病媒介昆虫を殺さないで、忌避させたり吸血意欲を喪失させるのが主な作用) の故に、上市から 50 有余年を経た現在でも依然として有効な蚊取り剤として使用され続けているという事実がある。

メトフルトリンは近年新しく開発されたピレスロイド剤である。メトフルトリンは衛生害虫 (特に蚊) に対する高い効力と常温で揮散する高い蒸気圧を有することを特徴とする。この高い効力と蒸気圧は従来のピレスロイドでは実現できなかった新しい常温揮散剤 (揮散に加熱を必要としない製剤) の開発を容易にした。メトフルトリンのこのような特徴を生かした新しい常温揮散剤は、本研究の研究代表者 (川田) らによって、インドネシア、ベトナム、タンザニア等で小規模のフィールド試験を実施した結果、デング熱媒介蚊であるネッタイシマカヤマラリア媒介蚊であるガンビエ・ハマダラカに対して高い空間忌避効果を示すことを明らかにし、この製剤がこのような疾病媒介蚊の吸血を長期にわたつて阻止し得ることが明らかにされた。

メトフルトリン製剤の空間忌避効果は、アレ

スリン系ピレスロイド剤を有効成分とする蚊取り製剤と同様に、蚊による吸血被害を必要最低限に抑えることを主目的とし、蚊の個体群の減少を引き起こさない (蚊を殺さない) ことに大きな特徴がある。これは、殺虫剤の残留散布や LLIN が蚊を殺すことによって、殺虫剤抵抗性を生み出してきたのに対し、抵抗性発現が事実上抑えられることを意味している。さらには、ケニア西部における小規模フィールド実験において、メトフルトリン製剤が、電位依存性ナトリウムチャンネルのミューテーション (*kdr*) によってピレスロイドに対する感受性のみならず忌避性をも低下させたピレスロイド抵抗性のガンビエ・ハマダラカに対して高い空間忌避効果を示すという極めて重要な知見が得られている。

2. 研究の目的

第一世代ピレスロイドとしての優れた性能を有するメトフルトリンによって、抵抗性を発達させない息の長い「空間忌避」製剤あるいはその使用方法をマラリアやデング熱の流行地域に定着させるのがこの研究の最終目的である。本研究は、これまで実用化できていなかった空間忌避剤による疾病媒介蚊防除への可能性を開拓するという重要な意義を持つ。さらには、現在既に防除困難となっているピレスロイド抵抗性媒介蚊によるマラリア伝播を、有効にかつ長期的に阻止する方法を全世界に提供しうる画期的な学術基盤を形成するものである。

3. 研究の方法

まず第 1 段階として、マラウイ共和国のマラリア流行地域において本製剤がマラリア媒介蚊に対する密度低下効果をどの程度の期間持続し得るかを、小規模スケール (家屋 40 軒) のフィールドで確認した。さらに、第 2 段階として、本製剤によつてもたらされた媒介蚊の空間忌避効果が、当該試験地域におけるマラリアの発生にどの程度の阻止効果を発揮するかを大規模なフィールド条件下 (家屋 750 軒) で確認した。具体的な方法は、試験前事前調査 (スプレイキャッチ法による媒介蚊の密度調査、媒介蚊の殺虫剤抵抗性実態調査、10 歳以下の子供を対象とした RDT および PCR によるマラリア罹患率の実態把握、家屋構造の調査)、製剤配布作業 (メトフルトリン製剤配布と LLIN (オリセット・プラス) の配布)、その後 1 年間の製剤介入後調査 (スプレイキャッチ法による媒介蚊の密度推移調査、媒介蚊の殺虫剤抵抗性の推移調査、RDT および PCR による 10 歳以下の住民のマラリア罹患率調査) を実施した。

4. 研究成果

(1) 家屋の構造とメトフルトリン揮散量の関係

試験地(マラウイ共和国ゾンバ地区)の家屋は、全てレンガ造り(日干しレンガあるいは焼レンガ)であるが、トタン屋根の家屋と茅葺き屋根の家屋の2タイプに大きく分けられた。家屋40軒の試験開始後4ヶ月間の平均室温を比較すると、トタン屋根の家屋の室温が茅葺き屋根の室温より高いことが分かった。室温の違いは、昼間(6:00-18:00)で2.7、夜間(20:00-4:00)で0.4となり、昼間の室温の違いが大きいことが分かる。メトフルトリン製剤中の有効成分残存量は平均室温に比例して高くなる傾向が見られた。さらに、比較的相関係数の高かった夜間の平均室温とメトフルトリン残存量との関係を、トタン屋根家屋と茅葺き屋根家屋に分けてプロットした結果、トタン屋根家屋では平均室温とメトフルトリン残存量との間に正の相関があるのに対し、茅葺き屋根家屋では相関関係はなく、メトフルトリンの揮散量は室温の高さに相関して上昇しないという、予想に反した事実が判明した。室温以外に茅葺き屋根家屋とトタン屋根家屋との間に考えられる違いは、家屋の構造の違いに起因する換気率である。茅葺き屋根家屋には屋根と壁の間に存在する"eaves"がある家が多く、eavesの少ないトタン屋根に比べて換気率が高いことが推察される。すなわち、換気率の高い茅葺き屋根家屋ではメトフルトリンが揮散しきってしまっていて、これ以上揮散出来ない状態になっている(残存量2%付近で頭打ちとなっている)のに対し、換気率の低いトタン屋根家屋では、平均室温の高い家屋ほど密閉率が高く換気率が低いために、見かけ上平均室温の高い家屋でのメトフルトリン残存量が高くなったものと考えられる。ちなみに、メトフルトリンデバイス処理前の蚊成虫採集数は、茅葺き屋根家屋で2.67頭、トタン屋根家屋で1.11頭となっており、茅葺き家屋での採集蚊数が多い。したがって、換気率の高い家屋では蚊の侵入確率は高くなるが、メトフルトリンの揮散率も高くなり防除率も向上するという、防除にとっては都合の良い結果となっていると思われる。

(2) 現地採集ハマダラカ(*An. arabiensis*)の殺虫剤感受性調査

ゾンバ地区 Chiliko 村の家屋の周りにある発生源(水田等)からハマダラカ幼虫を採集し、実験室内において羽化させた雌成虫を試験に使用した。殺虫試験方法は、WHOで定められた方法に準拠して行った。試験終了後、成虫を凍結させて殺してから1頭ずつマイクロチューブに入れ、Multiplex PCRによって種同定を行った。*Anopheles arabiensis*は、

ピレスロイドに対して全般に感受性が低く、中でもペルメトリンによる死亡率は約60%と低い値を示した。デルタメスリンとエトフェンプロクスは、ペルメトリンよりは高い致死率を示したが、いずれも80%程度であり、抵抗性の発達が示唆された。DDTに対する感受性にも若干低下が見られた。カーバメイト(プロポキサール)と有機リン剤(フェニトロチオン)に対する感受性は高く、いずれについても100%の致死を示した。ペルメトリンと協力剤を組み合わせた含浸紙について、同様の殺虫試験を行った結果、ペルメトリンとPBOあるいはDEMとの協力効果が見られ、酸化酵素あるいはグルタチオン転移酵素の増大が抵抗性に関与していることが示唆された。電位依存性ナトリウムチャンネルにおけるポイントミューテーション(L1014S)は認められなかった。

(3) 小規模試験によるオリセット・プラスとメトフルトリンデバイス併用によるマラリア媒介蚊防除効果

ゾンバ地区 Chiliko 村の家屋40軒を選択し、1)メトフルトリン・ストリップ 2個/10²m²+オリセット・プラス(10軒)、2)メトフルトリン・ストリップ 3個/10²m²+オリセット・プラス(10軒)、3)オリセット・プラスのみ(10軒)、4)無処理(10軒)の4試験区を設けた。試験開始前に使用されていたベッドネットの種類および数を調査し、調査後、使用されていたベッドネットを回収して、全住民をカバーするオリセット・プラスを各家屋に配布した(1張り/2人で配布)。処理前、処理より1週間後、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヶ月後、5ヶ月後にスプレーキャッチ法を用いて家屋よりマラリア媒介蚊成虫を採集した。

試験家屋におけるマラリア媒介蚊採集数(*An. arabiensis*と*An. funestus*s.s.雌成虫の合計)は、処理後の経過日数と共に増加する傾向を示したが、オリセット・プラス処理家屋、あるいはオリセット・プラス+メトフルトリン・ストリップ処理家屋では、処理より3ヶ月後においても無処理家屋における採集蚊数に比べて有意に少ない結果となった。採集蚊数の減少は、オリセット・プラスのみの処理家屋よりもメトフルトリン・ストリップ処理を併用した家屋の方が顕著であった。また、メトフルトリン・ストリップの処理数は、2個/10²m²と3個/10²m²との間に差は見られず、用法用量としては2個/10²m²が適当と考えられた。マラリア媒介蚊以外の蚊(ネッタイエカなど)の採集数は、処理1週間後においては、オリセット・プラス+メトフルトリン・ストリップ3個/10²m²の家屋の採集数が他の家屋に比べて低かったが、処理より1ヶ月後には無処理家屋との差は無くなったことから、マラリア媒介蚊以外の蚊に対しては、1ヶ月以内に効果は低下したと考え

られる。

(4) 大規模試験によるオリセット・プラスとメトフルトリンデバイス併用によるマラリア媒介蚊防除効果および住民のマラリア陽性率に対する影響

2015年5月から2016年5月にかけて、ゾンバ地区 Chiloko 村、Chilore 村、Lamusi 村の家屋約750軒を対象として大規模試験を実施した。試験区は、1)オリセット・プラスのみ配布(Chiliko 村約120軒)、2)オリセット・プラス+メトフルトリンデバイス(2個/10m²)を2回処理(2016年1月と4月、Chilore 村約220軒)、3)オリセット・プラス+メトフルトリンデバイス(2個/10m²)を1回処理(2016年1月、Lamusi 村約410軒)の3区とした。

大規模トライアル開始後(2015年12月)、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月後のマラリア媒介蚊数調査を行い、3区の比較を行ったところ、ハマダラカの捕獲数はメトフルトリンストリップ2回処理区において、雨期の期間中(約5ヶ月間)有意に他の区よりも低下することが分かった。

メトフルトリンストリップとオリセット・プラスの併用による大規模トライアル開始後の2016年5月に、住民(10歳以下)の熱帯熱マラリア陽性率の調査を実施した。マラリア陽性率は、オリセット・プラスのみの区においては2015年5月に実施した同調査に比べ変化が見られなかった(RDTで約40%、PCRで約25%)のに対し、メトフルトリンストリップ処理区では、1回処理区(RDTで30% 25%、PCRで25% 15%)、2回処理区(RDTで50% 35%、PCRで30% 25%)ともに低下が見られた。サンプル数が十分でなかったためか、統計的な有意性は得られなかった。

メトフルトリンストリップ(2個/10m²処理)を家屋内に処理することにより、有意なマラリア媒介蚊個体数の減少が見られ、同時に住民のマラリア陽性率に低下が見られたことは大きな成果である。小規模トライアルによって、メトフルトリンストリップの有効期間が3ヶ月以内であることが2014年度の試験によって明らかとなっているが、今回の大規模試験において、3ヶ月後に媒介蚊密度の若干の回復が見られた。したがって、大規模試験における2回処理の間隔を今回実施した3ヶ月ではなく2ヶ月とすることにより、より高い媒介蚊の密度低下効果が得られるであろうことが予測される。このような反省を元に第2ステージの大規模試験を2017年度に継続実施する予定である。

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2件)

1. Kawada, H. (2017): Possible new controlling measures for the pyrethroid-resistant malaria vectors. *Annals of Community Medicine and Practice* 3: 1019. 査読有. <https://www.jscimedcentral.com/CommunityMedicine/communitymedicine-3-1019.pdf>

2. 川田 均 (2014): 殺虫剤抵抗性疾患媒介蚊に対する新しい防除法の試み *衛生動物学* 65: 45-59. 査読有. DOI: <http://doi.org/10.7601/mez.65.45>

[学会発表](計4件)

1. 川田 均・中澤秀介・島袋 梢・大橋和典・Eggrey Aisha Kambewa・Dylo Foster Pemba (2017)メトフルトリン製剤を用いたマラウイ共和国におけるマラリアコントロールに関する大規模試験(1)マラリア媒介蚊個体群に対する密度抑制効果と小児の熱帯熱マラリア陽性率に対する影響 第69回日本衛生動物学会大会, 2017年4月14日~16日, 長崎大学(長崎県・長崎市)

2. 川田 均・中澤秀介・島袋 梢・Dylo Foster Pemba (2016)メトフルトリン製剤を用いたマラウイ共和国におけるマラリアコントロールに関する小規模試験(2)メトフルトリン製剤のマラリア媒介蚊個体群に対する密度抑制効果 第68回日本衛生動物学会大会, 2016年4月15日~17日, 栃木県総合文化センター(栃木県・宇都宮市)

3. 川田 均・中澤秀介・島袋 梢・大橋和典・D. F. Pemba (2015)メトフルトリン製剤を用いたマラウイ共和国におけるマラリアコントロールに関する小規模試験(1)メトフルトリンの揮散率と家屋の構造の関係に関する考察 第65回日本衛生動物学会南日本支部大会, 2015年10月17日~18日, 長崎大学(長崎県・長崎市)

4. Kawada, H. (2015) Possible new controlling measures for the pyrethroid-resistant malaria vectors. II *International Symposium on Pyrethrum*. 2015年8月6日~8日, 京都大学(京都府・京都市)

[図書](計1件)

1. 川田 均 (2016): 疾病媒介蚊対策における殺虫剤開発の最近の動向 *衛生動物学の進歩 - 第2集* 三重大学出版会(360pp) :

87-106.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川田 均 (KAWADA, Hitoshi)
長崎大学・熱帯医学研究所・准教授
研究者番号：80363480

(2)研究分担者

中澤 秀介 (NAKAZAWA, Shusuke)
長崎大学・熱帯医学研究所・客員研究員
研究者番号：20180268

島袋 梢 (SHIMABUKURO, Kozue)
長野県看護大学・看護学部・助教
研究者番号：40735247