

平成 22 年 7 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18406025

研究課題名（和文） マラリア抵抗性及び不完全免疫を支える遺伝生態学的背景

研究課題名（英文） Genetic and ecologic background and resistance to malaria

研究代表者

石田 貴文（ISHIDA TAKAFUMI）

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：20184533

研究成果の概要（和文）：東南アジア島嶼部（スンバ島）における不完全免疫マラリア感染状態といくつかのマラリア抵抗性遺伝的形質の分布を明らかにした。マラリア抵抗性遺伝形質のうち、バンド3欠失型についてはハプロタイプ解析から、その起源を推定した。また、遺伝的多様性と変異型G6PDの分布から、スンバ島民の来歴について理解を深めた。

研究成果の概要（英文）：We have investigated premunition status against malaria infection and the distribution of several genetic traits resistant to malaria infection in insular Southeast Asia. A haplotype analysis has suggested the origin of the band 3 27-base pair deletion in the Philippine islands. An autosomal STR analysis and the G6PD variants proposed relatively isolated condition of the Sumbanese as well as the relation with Pacific islanders.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2007年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
年度			
総計	13,400,000	4,020,000	17,420,000

研究分野：人類学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：スンバ島、マラリア、JCウイルス、ヘモグロビン異常症、卵形赤血球、集団生物学

1. 研究開始当初の背景

マラリアと人類の歴史は長く、マラリアはその浸淫地域の人ゲノム構成に干渉してきたと考えられている。マラリア流行地における適応的現象の1つである不完全免疫の成立はよく知られた現象であるが、その機構は未だ解明されていない。

2. 研究の目的

(1) 現地調査を基に、不完全免疫成立にかかわる遺伝と生態の寄与を明らかにすること。また、遺伝的多様性に基づき、それら民族の足跡をたどることを目的とする。

(2) ヒトポリオマウイルスの1つであるJCウイルスは進行性多層性白質脳症の原因ウイルスとして知られている。しかし、このJCウイルスはほとんど全ての人類集団に蔓延しており、大部分の人が子供の時に感染し、その後、腎に潜伏する。免疫機能が正常な健常者には何らの症状も引き起こさず、仔ウイルスは尿中に排出される。JCウイルスの感染は家族内、特に親から子へと感染する経路が主要な伝播経路であると考えられ、ウイルスゲノム型は民族マーカーとしても評価されている。それらの地理的な分布は大部分が既に明らかになっており、それぞれの地域に独特なJCウイルスサブタイプが存在する。JCウイルスの伝播動態と生活環境の関連を明らかにするためにJCウイルスのゲノム型を検索した。

(3) カナダの大学生を対象とした先行研究では、被験者が自分自身と顔の似た異性について、短期的パートナーとしての魅力を低く評価する傾向が見られた。この結果に基づいて、ヒトの顔貌が血縁度の標識形質として機能しており、自分と似た顔の異性に対して性的魅力を感じにくい心理傾向が、近親交配を回避する行動傾向を生み出しているとする仮説が提唱された。この仮説の信憑性を議論する上で、先行研究で見られた顔の魅力と顔の類似性との関係が、他の社会、特に西洋文化の影響が比較的小さい社会で、同様に成り立つことを確認する必要がある。本研究は、インドネシア・スンバ島の居住者を対象として、顔の魅力と顔の類似性との関係について検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) G6PD、ヘモグロビンE、マラリア原虫の検索にはいずれもPCR法を用いた。G6PDの変異型同定、ヘモグロビンE同定はさらにダイレクトシーケンスによった。B3Δ27の起源を探るべく、バンド3遺伝子の塩基配列の変異を調べB3Δ27の連鎖多型を明らかにし、ハプロタイプ解析をおこなった。対象としたのは、アジア太平洋地域に住む様々な集団中のB3Δ27をもつ個体、および

アジア太平洋地域と他の地域の一般集団であり、ハプロタイプの推定は、SSCP法を用いて個々の多型の遺伝子型を決めたのちPHASEプログラムを用いておこなった。さらに、B3Δ27についてはハプロタイプの推定のみではなくallele-specific PCR法によって直接、連鎖多型を決定した。

(2) 常染色体上に存在するShort Tandem Repeat (Autosomal STR:A-STR)の型判定を行った。判定にはAmpF0STR® Identifiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems社)を用い、D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGAの15座位のSTRを検出した。

(2) JCウイルスのDNAは尿サンプル500μlから抽出した。その際、High Pure Viral Nucleic Acid Large Volume Kit (Roche Diagnostics)を用い、タイピング領域である610bpのIG領域をPCR法で増幅した。IG領域はT抗原遺伝子とVP1遺伝子の3'末端領域を含む610bpの領域で塩基置換に富んでいる。ダイレクトシーケンシングによりIG領域の塩基配列を決定し、JCウイルスのタイピングを行った。

(3) インドネシア・スンバ島において居住者の顔写真を収集し、デジタルモーフィング技術を用いて、世代別、男女別の「平均顔」を作製した。また、実際の人物の顔と平均顔との量的差異に基づいて、特定の個人に似た合成顔を作製した。男女各24名の被験者が、自分自身や自分の異性親(男性なら母親、女性なら父親)に似た顔を含む、数人の異性の合成顔を比較し、それぞれについて、短期的・長期的パートナーとしての魅力を評価した。また、スンバ島居住者の顔写真から顔面形態の測定を行い、測定値から抽出した5つの主成分について、29組の夫と妻の間、夫と妻の父との間、妻と夫の母との間の相関を調べた。

4. 研究成果

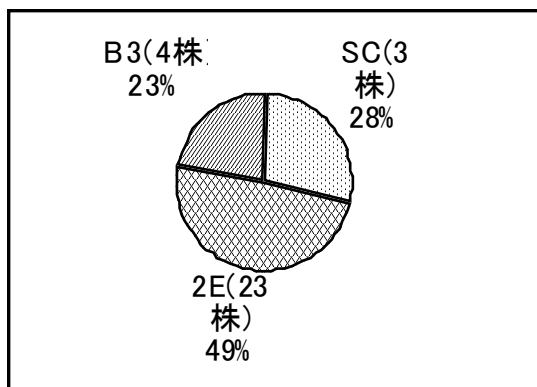
(1) G6PD、バンド3、ヘモグロビンE、異常ヘモグロビン症、マラリア原虫の検索をおこなった。マラリア関連形質であるG6PD欠損は7.5%、欠失バンド3は12%、異常ヘモグロビン症は25%に達していた。ヘモグロビンEの頻度は0.17であった。原虫保有者は、熱帯熱マラリア2%、三日熱マラリア1.8%と低いながらも不完全免疫の状態を示唆していた。変異G6PDについては塩基配列の解析をおこないVanuaLavaとViangchanを同定し、スンバ島民の予想される来歴を支持する結果がえられた。

B3Δ27を持つバンド3遺伝子が、全て同じハプロタイプを持つことが示され、B3Δ27が

単一起源であることが強く示唆された。B3Δ27 が生じた染色体のものと考えられるハプロタイプの分布を一般集団中で調べたところ、その頻度は低いながらも、東南アジア大陸部からインドネシア島嶼部にかけて見つかるのに対し、オーストロネシア語族の起源とされている台湾には見つからず、またフィリピン、ニューギニア高地でも見つからなかった。このことから、B3Δ27 は、ニューギニアや台湾の方よりは、アジア大陸から島嶼部で起きた可能性が高いと考えられた。考古学的・言語学的研究から推定されているオーストロネシア語族の移動の時期と、現在のB3Δ27 の分布とを考えると、B3Δ27 は紀元前三千年から紀元前二千年くらいの時期に、アジア太平洋地域に拡散してゆくオーストロネシア語族の集団中の遺伝子プール内に増え、その後、創始者効果や遺伝的浮動、またマラリアによる選択淘汰を通じて広がっていったと考察された。

(2) インドネシア周辺では東側と西側の2つのクラスターを形成したが、スンバ島の2地域はどちらのクラスターにも属さなかった。また当初の予測に反し、フローレス島は地理的に近接したスンバ島よりも、東側のセラム島、東ティモールと遺伝的に近いという結果になった。今回調査したインドネシア島嶼部の4集団すべてにおいて、近隣の集団と分岐してから比較的長い枝を形成した。

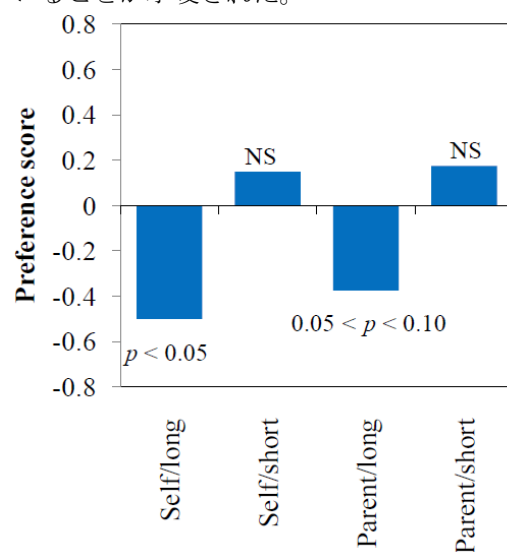
(2) 検出されたJCウイルスの内訳は、2E (n=26, 49%)、SC (n=15, 28%)、B3 (n=12, 23%) の3つのサブタイプのグループに分けることができた。スンバ島民では2Eが最も頻度の高いJCウイルスサブタイプであることがわかった。



2Eは主にミクロネシア・メラネシア・ポリネシア・フィリピンで見られ、SCは主に中国南部・東南アジアに分布している。B3は2001年に新しく同定されたサブタイプであり、タイやウズベキスタン、インドネシアの住民から検出されている。スンバ島民の起源はこれらの共通するJCウイルスサブタ

イプを持つ民族と関連していると考えられた。JCウイルスはどの集落に住む村民からも検出された。そこで、今回の検索地域であるスンバ島K村の各集落間で、JCウイルス株について分布の偏りを調べた。JCウイルスの主要な伝播経路を親子感染と想定すると、ウイルス株の分布の偏りが期待されるが、実際には集落間でそれらの分布の偏りはみられなかった。これは結婚や養子縁組などの理由から集落間でヒトの移動が起こり、家族関係を持つ人が村内で離れて住むことで、同一のウイルス株もそれに伴って村中に広がったためであると考えられた。

(3) 特定の個人が特定の異性の顔について感じる魅力は、両者の顔の類似性に依存していることが示唆された。



(被験者は、自分自身と顔の似た異性について、長期的パートナーとしての魅力が低いと評価した (self/long)。自分自身の顔との類似性は、短期的パートナーとしての魅力には影響を与えていなかった (self/short)。また、被験者は、自分の異性親と顔の似た異性について、長期的パートナーとしての魅力が低いと評価する傾向があったが、この傾向は統計的に有意ではなかった (parent/long)。自分の異性親の顔との類似性は、短期的パートナーとしての魅力には影響を与えていなかった (parent/short)。) この結果から、顔貌に関する性的刷り込み様効果が存在する可能性が示唆された。

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6件)

1. 石原祥子、清水華、石田貴文、集団内JCウイルスゲノム型の解析による伝播

- 動態の検討、DNA多型、Vol. 18. 2010. 査読有
- Ikegaya, H., Zhong, S., Shimizu, H., Sekiyama, M., Soemantri, A., Ishida, T., Nakazawa, M., Ohtsuka, R., Takasaka, T., Shibuya, A., Kitamura, T. and Yogo, Y. The Pacific Lineage (2E) of JC Polyomavirus is Prevalent in Sumba Island, Eastern Indonesia. *Anthropological Science*, 2008, 116: 183-186. 査読有
 - Nagao, Y., Kimura-Sato, M., Chavalitshewinkoon-Petmitr, P., Thongrunkiat, S., Wilairatana, P., Ishida, T., Tan-Ariya, P., Brian de Souza, J., Krudsood, S. and Looareesuwan, S. Suppression of *Plasmodium falciparum* by serum collected from a case of *Plasmodium vivax* infection. *Malaria Journal*, 2008, 7:113-120. 査読有
 - Kashima, T., Makino, K., Soemantri, A and Ishida, T. *TP53* codon 72 polymorphism in 12 populations of insular Southeast Asia and Oceania. *Journal of Human Genetics*, 2007, 52: 694-697. 査読有
 - Kimura, M., Soemantri, A., Siswanto, E. and Ishida, T. Ovalocytosis without band 3 gene 27-bp deletion and malaria infection. *Anthropological Science*, 2006, 114: 161-164. 査読有
 - Ninokata, A., Kimura, R., Samakkarn, U., Settheetham-Ishida, W. and Ishida, T. Coexistence of five G6PD variants indicates ethnic complexity of Phuket Islanders, southern Thailand. *Journal of Human Genetics*, 2006, 51: 424-428. 査読有
- [学会発表] (計5件)
- 石原祥子、清水華、石田貴文、集団内JCウイルスゲノム型の解析による伝播動態の検討、DNA多型学会、2009年11月20日、久留米
 - 佐藤正子・神田 芳郎・木村 博司・宝来聰・Nizam Isa・Saturnina C. Halos・Wannapa Settheetham-Ishida・Surin Pookajorn・Danai Tiwawech・Augustinus Soemantri・石田貴文、東南アジア型卵形赤血球症の原因となる SLC4A1 遺伝子 27 塩基対欠失の起源、日本人類学会、2008年11月3日、名古屋
 - Kashima, T., Makino, K., Soemantri, A. and Ishida, T. TP53 codon 72 polymorphism in 12 populations of insular Southeast Asia and Oceania. Fifth ISABS Conference in Forensic

- Genetics and Molecular Anthropology, Split, Croatia, Sept. 11, 2007
- Ninokata, A. and Ishida, T. Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Southeast Asia and Oceania. 11th ICHG Brisbane, Australia (Aug. 6-10, 2006).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 貴文 (ISHIDA TAKAFUMI)
東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究者番号：20184533

(2) 研究分担者

井原 泰雄 (IHARA YASUO)
東京大学・大学院理学系研究科・講師
研究者番号：90376533

清水 華 (SHIMIZU HANA)

東京大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：80401032

(3) 研究協力者

アウグスティヌス ソマントリ
(AUGUSTINUS SOEMANTRI)
ディポネゴロ大学・医学部・教授

マリア メキシタリア (MARIA MEXITALIA)
ディポネゴロ大学・医学部・講師

ワンナパ セテイータムーイシダ
(WANNAPA SETTHEETHAM-ISHIDA)
コンケン大学・医学部・准教授

加島 妙子 (KASHIMA TAEKO)
東京大学・大学院理学系研究科・博士課程

石原 祥子 (ISIHARA SHOKO)
東京大学・大学院理学系研究科・修士課程

北村 ゆみ (KITAMURA YUMI)
東京大学・大学院理学系研究科・修士課程

能城 沙織 (NOJO SAORI)
東京大学・大学院理学系研究科・博士課程